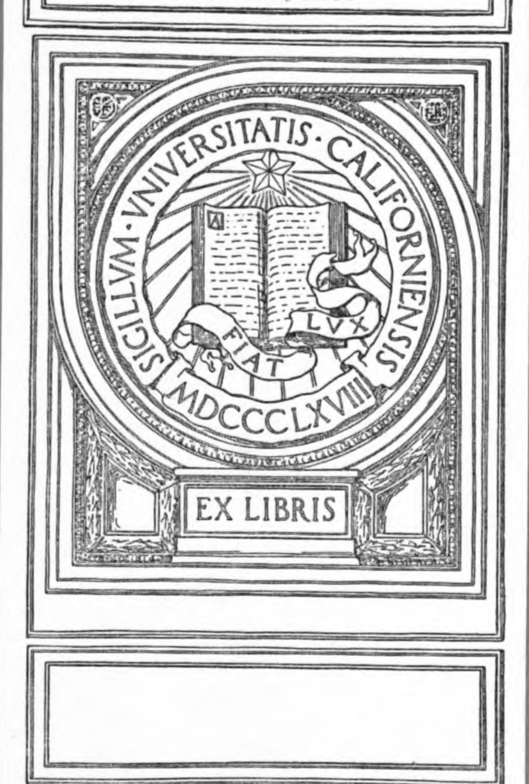
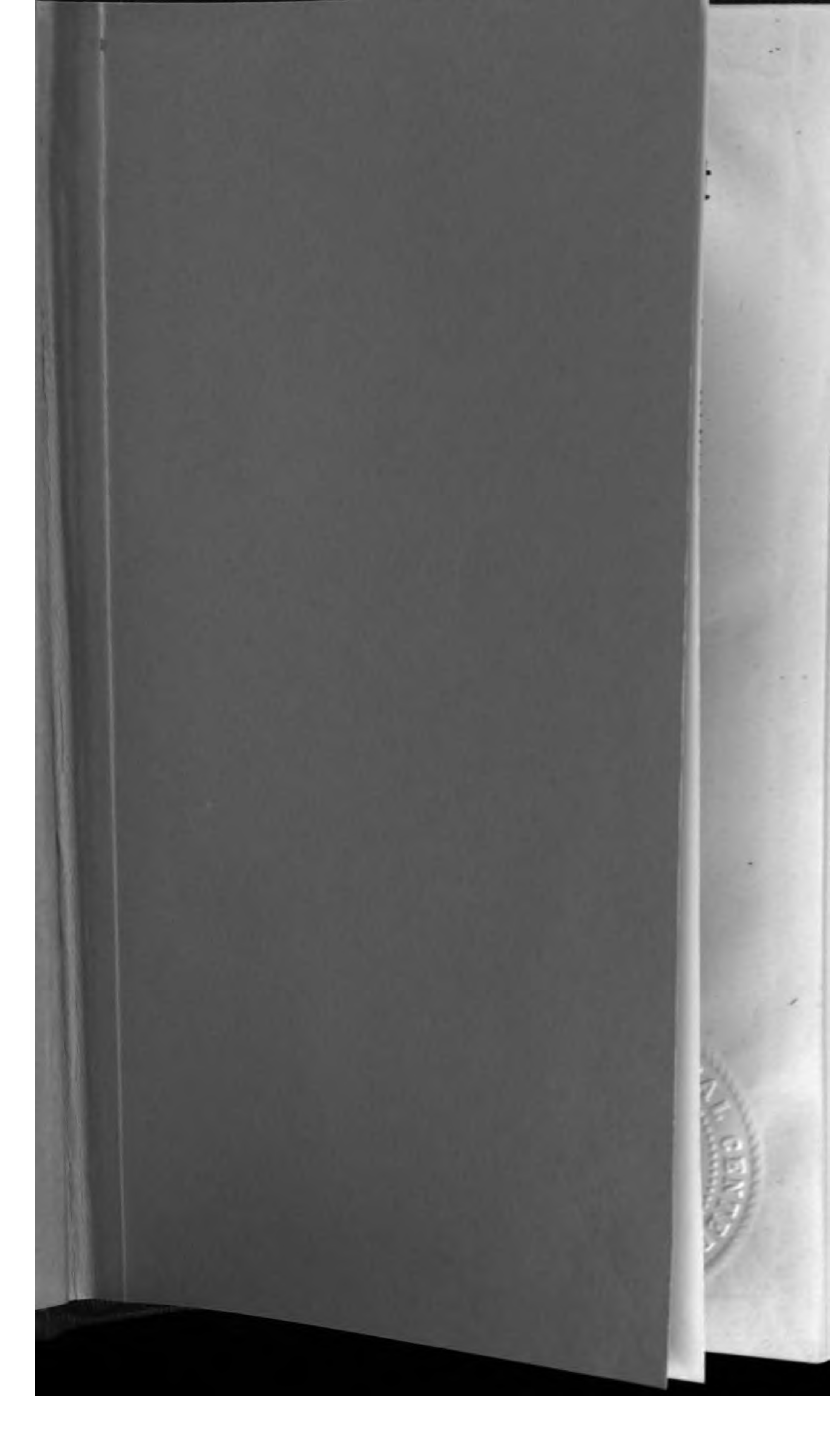

UC-NRLF
B 3 778 059


SIGILLVM · VNIVERSITATIS · CALIFORNIENSIS
FIAT LVX
MDCCCLXVIII
EX LIBRIS



Biochemische Zeitschrift

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie

Herausgegeben von

F. Hofmeister-Würzburg, C. von Noorden-Frankfurt a. M., E. Salkowski-Berlin, A. von Wassermann-Berlin,

unter Mitwirkung von

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin

Hundertzweiundzwanzigster Band

Manulnachdruck



Berlin

Verlag von Julius Springer

1921

Druck der Spamerschen Buchdruckerei in Leipzig.

Inhaltsverzeichnis.

Beiträge zur Kenntnis des Mineralstoffhaushaltes.

V. Mitteilung*).

Über die Wirkung des Karlsbader Wassers auf den Anionenbestand des Kaninchens.

Von

Emil Stransky.

(Aus dem Pharmakologisch-pharmakognostischen Institute der deutschen Universität in Prag.)

(Eingegangen am 30. Mai 1921.)

In früheren Arbeiten zu diesem Gegenstande konnte gezeigt werden, daß durch, hinsichtlich des Kationengehaltes, verschiedene Kostordnungen beim Kaninchen wesentliche Änderungen im Bestande des Organismus an Kationen herbeigeführt werden können, (Luithlen) und daß eine derartige Änderung auch bei gleicher Kostordnung durch den Ersatz des gewöhnlichen Tränkwassers durch Mineralwasser herbeigeführt werden kann (Sgalitzer). Diese Veränderungen betreffen einerseits die absolute Kationenmenge des Organismus und andererseits das Verhältnis der einzelnen Kationen des Organismus zueinander. Da gleichzeitig mit ihnen auch Änderungen im Verhalten der Tiere sowie in ihrer Beeinflußbarkeit durch verschiedene Eingriffe (Temperatur, Gerinnungszeit des Blutes, bezw. Fieber [Freund], Entzündung [Luithlen], Magnesium-Narkose [Stransky]) einhergehen, wurde der Schluß auf einen ursächlichen Zusammenhang zwischen der analytisch festgestellten Veränderung im Mineralstoffhaushalte und diesen Veränderungen im Verhalten und der Beeinflußbarkeit gezogen und die Wirkung von Mineralwassertrinkkuren durch die

*) I. Mitteilung: Wiechowski, Zeitschr. f. Balneol., Klimatol. u. Kurorthyg. **5**, 433. 1912. — II. Mitteilung: Sgalitzer, Zeitschr. f. Balneol., Klimatol. u. Kurothyg. **7**, 1. 1914. — III. Mitteilung: Wiechowski, Prager med. Wochenschr. **39**, Nr. 24. 1914. — IV. Mitteilung: Handovsky, Jahrb. f. Kinderheilk. **91**, 432. 1920.

möglicherweise auch beim Menschen hierbei eintretenden Veränderungen des Mineralstoffhaushaltes erklärt.

Die bisherigen Untersuchungen und Ergebnisse beziehen sich ausschließlich auf das Verhalten der Kationen Ca, Mg, K, Na. Hierbei wurde vorausgesetzt, daß diese Kationen im Organismus zur Gänze in einem, Gleichgewichtsreaktionen ermöglichenden, Zustande vorhanden sind. Andererseits wurde angenommen, daß sich an den als maßgebend erkannten Gleichgewichten der Kationen im Organismus keine anderen, als die genannten Kationen in erheblicherem Maße beteiligen. Denn von dem einzig noch in Betracht gezogenen Eisen wurde angenommen, daß es nicht ionisiert, sondern ausschließlich als Bestandteil eines organischen Molekels (Hämoglobin und seine Derivate) im Organismus vorhanden ist.

Mittlerweile ist allerdings durch den Nachweis des regelmäßigen Vorhandensein von Aluminium (Gonnermann) und Zink (Rost) in den Säugetierorganen, welche Kationen sich vielleicht auch in einem Gleichgewichtsreaktionen ermöglichenden Zustande im Organismus vorfinden, die eine dieser Voraussetzungen unsicher geworden, wodurch jedoch die Gültigkeit der gezogenen Schlüsse insofern nicht beeinflußt wird, als diese nicht auf einer bestimmten Änderung der Gleichgewichtsverhältnisse, sondern nur auf der Tatsache der Änderung der Kationengleichgewichtsverhältnisse fußen. Immerhin ist es notwendig, über den Zustand namentlich des Aluminiums in den Säugetierorganen Aufklärung zu suchen, welches nach den bisherigen Erfahrungen in weit größeren Mengen als das Zink in den Organen gefunden worden ist. Derartige Untersuchungen sind am hiesigen Institute im Gange.

Mit dieser Einschränkung kann jener Teil der Untersuchungen über den Mineralstoffwechsel bis zu einem gewissen Grade als abgeschlossen angesehen werden.

Um aber ein vollständigeres Bild über die im Organismus als Folge einer Ernährungsänderung oder Mineralwasserzufuhr vor sich gehenden Veränderungen der mineralischen Zusammensetzung zu gewinnen, war es notwendig, außer dem Verhalten der Kationen auch das der eingeführten Anionen zu kennen.

Der Gewinnung erster Anhaltspunkte auf diesem Gebiete sollten die in folgendem mitzuteilenden Versuche dienen.

Die hierbei in Betracht kommenden Anionen sind vorzugsweise: Chlorid, Sulfat, Phosphat und Hydrokarbonat.

Methodisch müssen Versuche, welche das Verhalten der Anionen betreffen, insofern anders angelegt werden, als man nicht schlechtweg wie bei den Kationen von der Analyse der Asche ausgehen kann. Denn während man von den gemeinten Kationen, wie erwähnt, annehmen darf, daß sie im Leben nicht als Bestandteile organischer Molekel (an C gebunden) vorkommen, ist diese Annahme bei den Anionen nicht durchgehends gestattet, da zumindest Sulfat bei der Veraschung organischer Substanzen, insbesondere von Eiweiß aus dessen S entsteht und daher der Sulfatgehalt der Asche nichts aussagt über den Sulfatgehalt des in Arbeit genommenen Organs, Nahrungsmittels oder Kotes.

Beiläufig sei hier eine schon vor mehreren Jahren im hiesigen Institute gemachte Beobachtung*) erwähnt, daß tierische Organe (Leber) bei der antiseptischen Autolyse nicht unerhebliche Mengen Sulfat entstehen lassen, woraus auf das Vorhandensein von hydrolytisch abspaltbarer Schwefelsäure in den Organen geschlossen werden kann, so daß als Quelle der ausgeschiedenen Sulfate nicht nur die Oxydation namentlich des Eiweißes, sondern, wie bei der gleich zu besprechenden Phosphorsäure ausschließlich, auch die hydrolytische Abspaltung präformierter Schwefelsäure in Betracht gezogen werden muß.

Die geringen in den Organen (Blut) auffindbaren Mengen präformierten Sulfats haben wie das Harnsulfat wohl nur die Bedeutung einer der vollständigen Ausscheidung unterliegenden Stoffwechselschlacke und sind kein für die Organfunktion physiologisch notwendiger Bestandteil. Das Sulfat greift also in den Mineralstoffwechsel, wie er hier als Grundlage für die Reaktionsweise der Organe aufgefaßt wird, nicht ein, es kann in diesem Sinne geradezu als organfremd bezeichnet werden.

Auch die Aufnahme von anorganischem Sulfat in der normalen Nahrung ist so geringfügig, daß sie geradezu vernachlässigt wer-

*) Unveröffentlicht. Wie aus den nach Friedensschluß wieder zugänglich gewordenen Veröffentlichungen der Société de Biologie in Paris hervorgeht, wurde dieses Auftreten von Sulfat bei der Autolyse auch von Robin und Bournigault beobachtet. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **71**, 187. 1919.

den kann. Im Hafer ist nur 0,1% mit Salzsäure ausziehbares Sulfat enthalten.

Über den Sulfatgehalt des Blutes wurden im Jahre 1914 von Professor Wiechowski eine Reihe orientierender Versuche angestellt, über die hier vorläufig Folgendes berichtet sein möge: Es war angestrebt, eine Methode auszuarbeiten, welche die freien Ionen bezw. an Gleichgewichtsreaktionen sich beteiligenden Mineralstoffe zu bestimmen gestatten sollte. Es wurde angenommen, daß diese identisch seien mit dem dialysablen Anteile der Mineralstoffe der Organe. Die zu untersuchenden Substanzen, Serum, Blut, Organbrei wurden nach Bestimmung des Trockengehaltes in einer Dialysierhülse von Schleicher-Schüll aus Pergamentpapier eingemessen und, mit Toluol bedeckt, gegen eine gemessene Menge destillierten Wassers, welches gleichfalls mit Toluol bedeckt war, sechs Tage lang dialysieren gelassen. Besondere Versuche mit Magnesiumsulfat, also einem schwer dialysablen Salze hatten ergeben, daß nach dieser Zeit innerhalb und außerhalb des Schlauches Gleichgewicht eingetreten war. Nach beendigter Dialyse, während welcher durch die Toluolüberschichtung eine Volumsänderung durch Wasserverdampfung vermieden worden war, wurde ein aliquoter, gemessener Teil der eiweißfreien Außenflüssigkeit analysiert. Das Ergebnis, auf das Volumen Außenflüssigkeit mehr Innenflüssigkeit (aus dem Trockengehalt ermittelt) umgerechnet, ergab die in der untersuchten Probe vorhanden gewesenen freien Mineralsubstanzen. Auf diese Weise ließen sich Calcium, Magnesium. Chlor, Phosphorsäure und Schwefelsäure bestimmen.

Beim Sulfat wurden von dem Serum zugesetztem 100% gewonnen, desgleichen bei Calcium und Chlorid.

In 2 verschiedenen Proben von Schweineserum wurden auf diese Weise ermittelt:

0,63 g und 0,62 g NaCl pro 100 ccm Serum
0,0158 g Ca „ 100 „ „

In geschlagenem Kaninchenblut wurden gefunden 0,65 g NaCl pro 100 ccm.
im Kaninchenserum „ „ 0,67 „ „ „ 100 ccm.

Die nach der beschriebenen Methode gefundenen Sulfatwerte betrugen:

0,0457 g SO_4 = 0,9525 mg-Äquivalente in 100 ccm Schweineserum (Schlachthausblut),

0,0375 g SO_4 = 0,78 mg-Äquivalente in 100 ccm Kaninchenserum (Hafer-Heufütterung).

In diesen beiden Versuchen war das Verhältnis Cl : OS_4 = 100 : 7 bei Kaninchenserum, Cl : SC_4 = 100 : 8,8 beim Schweineserum.

Bei zwei weiteren Kaninchen wurde ermittelt:

0,0375 g SO_4 = 0,78 mg-Äquivalente pro 100 ccm Serum und Cl : SO_4 = 100 : 9,0,

0,0427 g SO_4 = 0,89 mg-Äquivalente pro 100 ccm Serum und Cl : SO_4 = 100 : 9,8.

Im Mittel fanden sich also 0,0401 g SO_4 pro 100 ccm Kaninchenserum und 0,0458 g SO_4 pro 100 ccm Schweineserum, also einander nahestehende und sehr kleine Zahlen.

Im Serum von mit Hafer gefütterten Kaninchen verhielten sich die Äquivalente Cl : SO_4 = 100 : 8, das Sulfat entsprach also nur ca. $^1/_{12}$ der vorhandenen Cl'-Äquivalente. Anders stellt sich das Verhältnis im Harn dieser Tiere, wo sich Cl : SO_4 verhält wie 100 : 770, 100 : 616, 100 : 493 und 100 : 901 und im Karlsbader Wasser, in welchem das Verhältnis Cl : SO_4 = 100 : 200 ist.

Vom Chloridion kann wohl mit der gleichen Sicherheit, wie von den genannten Kationen vorausgesetzt werden, daß es im Lebenden bereits als solches zur Gänze präformiert ist. Chlor ist bisher als Bestandteil eines im Organismus vorkommenden organischen Molekels nicht gefunden worden, wenn von den unsicheren Angaben über organische Chlorverbindungen im Harn abgesehen wird.

Der Phosphor kommt in den Verbindungen des tierischen und pflanzlichen Organismus soweit bekannt ist, nicht direkt an C gebunden, sondern nur als substituierte, durch Hydrolyse glatt abspaltbare Orthophosphorsäure H_3PO_4 vor: Phosphatide, Nucleoproteide, Hexosediphosphorsäure (Lactacidogen), Phosphorproteide (Casein). Organischer Phosphor im eigentlichen Sinne des Wortes fehlt nach den heutigen Kenntnissen der tierischen und pflanzlichen Zelle. Wir betrachten daher das Phosphation der Asche von Kot und Nahrung als in diesen zur Gänze präformiert. Wenn es das auch in einem anderen Sinne als das Chloridion ist, so resultiert für den intermediären Stoffwechsel doch allemal nur Phosphorsäure, da die gepaarten Phosphorsäuren, welche die einzige Bindungsform des Phosphors in Nahrung und Körperzellen sind, schon in den Verdauungswegen der restlosen Hydrolyse unterliegen und infolgedessen wohl vorzugsweise bereits ionisiertes Phosphat resorbiert wird. Es scheint dementsprechend für den Phos-

phatbedarf des tierischen Organismus gleichgültig zu sein, ob er anorganisches oder organisch gebundenes Phosphat aufnimmt (Durlach, Osborne und Mendel) und es kann daher auch das im Zellverschleiß anfallende Phosphat wieder verwendet werden (Mcll bei Säuglingen, Embden und seine Schüler bei der Muskeltätigkeit). Es vollführt demnach das Phosphat z. T. wenigstens einen Kreislauf im Stoffwechsel im Sinne von Wendt. Das Phosphat von Harn und Kot ist zur Gänze frei. Jedenfalls sind die Angaben über organisch gebundene Phosphorsäure im Harn ganz unsicher (vgl. Neubauer-Huppert, der Harn). Der Hafer enthält ca. 13% der gesamten Phosphorsäure in durch kalte Säure extrahierbarer Form.

Gemäß diesen Überlegungen wurde zur Ermittelung des aufgenommenen Chlorids und Phosphats deren Gehalt in der Asche herangezogen, zur Ermittelung des aufgenommenen anorganischen Sulfats dagegen bloß der Säureauszug der Nahrung; die Ausscheidung anorganischen Sulfates in Kot wurde auch an dem Säureauszug bestimmt. Über die Abgrenzung des anorganischen Teiles des Sulfatstoffwechsels vom organsichen (Oxydation) wird weiter unten berichtet.

Mit dem Verhältnisse dieser 3 Anionen unter dem Einfluß der Zufuhr von Karlsbader Mineralwasser und einem Gemenge von Kalium- und Natriumsulfat in dem Verhältnisse wie es dem zwischen Kalium und Natrium in der Ringerlösung entspricht, befaßt sich meine Untersuchung.

Von der Mitheranziehung des HCO_3'-ions und des von Gonnermann neuestens als regelmäßigen Bestandteil des Organismus festgestellten Kieselsäureions, von denen dem ersteren die überwiegende Bedeutung zukommt, wurde abgesehen. Das HCO_3'-ion verdankt zum allergrößten Teile seine Entstehung der Oxydation der Kohlenstoffverbindungen im Organismus und seine hauptsächliche Bedeutung liegt daher zunächst nicht auf dem Gebiete des Mineralstoffwechsels. Über das Kieselsäureion und seine Bedeutung am Aufbau der lebenden Substanz wissen wir derzeit trotz der eingehenden Untersuchungen Gonnermanns noch so wenig, daß wir es nicht als einen wesentlich in Betracht kommenden Bestandteil des Anionenhaushaltes im tierischen Organismus bezeichnen können. Durch die Vernachlässigung des HCO_3-ions ev. auch des SiO_2-ions wird natürlich die Feststellung

eines Anionengleichgewichtes unmöglich. Es kommen aber beim Studium des Anionenhaushaltes im tierischen Organismus Gleichgewichtsverhältnisse zwischen den einzelnen Anionen schon aus dem Grunde weniger in Betracht als bei den Kationen, weil zunächst ein Teil der frei im Organismus zirkulierenden anorganischen Anionen erst beim Stoffwechsel entstanden ist, also als Stoffwechselschlacken (Sulfat, Hydrokarbonat) eine wesentlich andere Bedeutung für den Organismus haben, als z. B. das lebenswichtige Chloridion, wobei das Phosphation eine Mittelstellung einnimmt. Dazu kommt, daß ein physiologischer Antagonismus der einzelnen Anionen, wie er hinsichtlich der Kationen Ca, Mg, K, Na durch Loeb bekannt geworden und seither vielfach studiert worden ist, nicht zu bestehen scheint. Ich glaube daher nicht, daß das gegenseitige Verhältnis der Äquivalente aller vorkommenden Anionen, so wie dies bei den Kationen der Fall ist, für die Reaktionsfähigkeit des Organismus maßgebend ist. Im Säugetierorganismus tritt bei allen Untersuchungen die dominierende Rolle von Phosphat und Chlorid deutlich zu Tage, sie sind die einzig in Betracht kommenden „physiologischen" Anionen des Organismus und hinsichtlich ihrer Bedeutung mit den Kationen K, Na, Ca, Mg auf eine Stufe zu stellen.

Meine Untersuchungen gingen zunächst darauf aus, festzustellen, ob sich das Chlorid des Organismus nicht teilweise durch Sulfat ersetzen ließe, ob die bekannte Vertretbarkeit des Chloridions durch das Bromidion nicht etwa nur ein Spezialfall einer allgemeinen Vertretbarkeit des Chloridions durch andere Anionen wäre. Dabei wurde in erster Linie deshalb an das Sulfation gedacht, weil es in vielen Mineralwässern in reichlicher Menge vorkommt und ihm möglicherweise außer der lokalen abführenden Wirkung auch eine Beteiligung an der resorptiven Wirkung, welche diesen Wässern zugeschrieben wird, zukommt.

Die Versuche wurden an vier ausschließlich mit Hafer gefütterten Kaninchen angestellt. Die Tiere machten zunächst eine mehrtägige Angewöhnungsperiode im Stoffwechselkäfig bei Hafer und Leitungswasser durch. Hierauf folgte eine 8- resp. 5tägige Vorperiode bei gleichem Regime, dann kamen zwei 8- resp. 5tägige Hauptperioden, in welchem das Tränkwasser durch Karlsbader Wasser oder durch das oben gekennzeichnete künstliche Sulfatwasser ersetzt war, worauf dann wieder eine 8- resp. 5tägige Nach-

periode bei Leitungswasser folgte. Täglich wurden Harn und Kot gesammelt und ihre Menge bestimmt, ebenso wurde (unter Berücksichtigung der Wasserverdampfung) die Wasseraufnahme aus den Tränknäpfen und die gefressene Hafermenge durch Wägung der Futternäpfe und schließlich auch das Körpergewicht der Tiere nach dem Harnabdrücken festgestellt. Die zu den einzelnen Versuchsperioden zugehörigen Harn- und Kotmengen wurden, jede für sich vereinigt und gründlich gemischt zur Analyse gebracht. Der Kot wurde lufttrocken werden gelassen, dann in der Reibschale vollkommen gleichmäßig zerkleinert und schließlich nochmals im ganzen gewogen.

Der Chlorid- und Sulfatgehalt des Leitungswassers und der Sulfatgehalt des erwähnten Sulfatwassers wurden analytisch festgestellt, für das Karlsbader Wasser wurden die Analysen von Ludwig und Mautner benützt. Im Hafer und Kot wurden die Chloride, Sulfate und Phosphate einerseits nach Zerstörung der organischen Substanz bestimmt, andererseits der Gehalt an präformierten Anionen in Auszügen festgestellt, welche mit verdünnter Salpetersäure hergestellt worden waren. Dabei zeigte sich, daß das gesamte Chlorid, ca. 13% der Gesamtphosphorsäure und nur 1,5% des Gesamtsulfates (in 100 g Hafer 11 mg SO_4) in den Haferauszug übergehen. Der Kot enthält, abgesehen von geringen Mengen Chlorid und Spuren Sulfat, als einziges Anion Phosphat und dieses zur Gänze durch Säure extrahierbar. Im Harn wurden die anorganischen Sulfate und nach Kochen mit Salzsäure die Gesamtsulfate bestimmt. Für die Bilanzierung des Chlorids und Phosphats ergab sich nach dem oben Ausgeführten weiter kein Bedenken, den gesamten Chlor- und Phosphatgehalt der Einfuhr und Ausfuhr als anorganisch zu buchen, wenn auch von der Gesamtphosphorsäure des Hafers nur 13% tatsächlich präformiert sind.

Ein anderes Vorgehen war bei der Bilanzierung des Sulfats notwendig. Der Hafer enthält, wie erwähnt, nur Spuren von anorganischem, mit Säure extrahierbarem Sulfat, der große Sulfatgehalt der Asche ist auf das Eiweiß zu beziehen. Der Kot verhält sich ganz gleich, auch hier nur Spuren von extrahierbarem Sulfat, dagegen reichlich Sulfat in der Asche. Beiläufig sei hier bemerkt, daß der Schwefelgehalt des Hafers zum N-gehalt im Verhältnis S : N = 1 : 6,6 steht. Das Verhältnis S : N beim Haferprotein ist mit 1 : 8 angegeben (Osborne in Abderhaldens Bioche-

mischem Handlexikon), so daß schwer oder gar nicht extrahierbare Sulfate kaum angenommen werden können. — Ähnliches gilt für den Kot; das gefundene Verhältnis S : N in der Asche weist auf das Vorhandensein von Eiweiß hin und läßt erhebliche Mengen unlöslicher Sulfate ausschließen.

Ich machte die Annahme, daß im Hafer und Kot nur das mit Salzsäure extrahierbare Sulfat als solches vorhanden ist. Diese Menge ist so klein, daß sie für die Ergebnisse vernachlässigt werden kann. Die Bilanzierung des als solches in den Hauptperioden eingeführten Sulfates war unter diesen Umständen vollkommen unsicher, da das Normalsulfat im Harn so gut wie vollständig den im Hafer zugeführten organischen Schwefelverbindungen neben der Oxydation des Organismuseiweißes seine Entstehung verdankt und seine Menge von dem Verhalten des Tieres und der Nahrungsaufnahme abhängig ist. Ich suchte auf folgende Weise zu einem wenigstens annähernden Schlusse auf die Sulfatbilanz zu gelangen. Aus der Vorperiode wurde errechnet, wieviel Sulfat jedes Tier für 100 g gefressenen Hafers im Harne ausgeschieden hat. Aus dieser Zahl wurden für die nachfolgenden Perioden die aus Nahrungshafer und Zellverschleiß anfallenden Sulfatmengen berechnet, von den im Harn zur Ausscheidung gelangten Sulfatmengen abgezogen und erst der verbleibende Rest als Sulfatausgabe in Rechnung gestellt. Die für 100 g gefressenen Hafers von den 4 Tieren in den Vorperioden im Harn ausgeschiedenen Sulfatmengen betrugen in Milligramm-Äquivalenten: Kaninchen A: 3,94, Kaninchen B: 4,00, Kaninchen C: 5,06, Kaninchen D: 5,21. Dazu ist zu bemerken, daß die Tiere C und D während der Vorperiode einen Gewichtssturz erlitten haben, der bei D auch von einem Negativwerden der N-Bilanz begleitet war, woraus sich die höheren Werte bei diesen Tieren erklären lassen.

Neben der täglichen Wägung der Tiere, welche an sich ein gutes Maß für das Allgemeinbefinden bietet, suchte ich durch Bestimmung der N-Bilanz in den für die S-Bilanz wichtigen Eiweißstoffwechsel der Tiere Einblick zu gewinnen. Damit war gleichzeitig die Wirkung der in Untersuchung stehenden Salzgemenge auf den N-Haushalt festgestellt.

Es sei hier übrigens darauf aufmerksam gemacht, daß alle Stoffwechseluntersuchungen bei Kaninchen von vornherein mit einer gewissen Unsicherheit behaftet sind, da wegen des langen

Aufenthaltes der Ingesta im Blinddarm, wo sich die neuen mit den alten Massen mischen, ohne daß es wie überhaupt im Kaninchendarm jemals zu einer völligen Entleerung käme, die abgesetzte Kotmenge zeitlich dem gleichzeitig ausgeschiedenen Harn nicht entspricht, sondern von vorhergehenden Verdauungsperioden stammt.

Dieser Fehler läßt sich kaum ausschalten, da eine Kotabgrenzung wie beim Fleichfresser infolge der erwähnten, im Blinddarm erfolgenden Mischung von alten und neuen Ingestis nicht möglich ist. In der Tat erscheint z. B. per os gereichte Kohle in allmählich steigendem Ausmaße zuerst etwa am dritten Tage merkbar im Kote und wird weiter zunächst anscheinend in gleichbleibender, später in abnehmender Menge ausgeschieden, bis sie allmählich in 8—10 Tagen verschwindet. Die Bedeutung dieses Fehlers läßt sich nur durch möglichste Länge der Versuchsperioden und Einschaltung langer Zwischenperioden herabdrücken.

Die Analysenergebnisse wurden in Anionengewichten und Anionen-Milligrammäquivalenten ausgedrückt. Das Chloridion $Cl' = 35{,}46$ bezw. $\frac{35{,}46}{1} = 35{,}46$ und Sulfation $SO_4'' = 96{,}06$ bezw. $\frac{96{,}06}{2} = 48{,}03$. Die entsprechenden Zahlen für die Phosphorsäureanalysen wurden wie folgt gewonnen. Da bei der aktuellen Reaktion des Organismus weder ein Ion PO_4''' noch ein Ion HPO_4'' noch auch H_2PO_4' möglich ist, wählte ich für die Darstellung der Phosphorsäureanalysen in Ionenform ein kombiniertes Ion, welches sich ergibt aus dem Verhalten der Phosphate bei der aktuellen Reaktion des Blutes, in welchem entsprechend dessen H-Ionenkonzentration auf 2 Mole Na_2HPO_4 annähernd 1 Mol NaH_2PO_4 kommt. Daraus ergibt sich, ein fünfwertiges Ion $H_4(PO_4)_3'''''$ mit einem Gewichte von 289,15 und einem Äquivalent von $\frac{289{,}15}{5} = 57{,}83$, das einer Säure $H_9P_3O_{12}$ mit dem Molekulargewicht 294,19 entspricht. Das Äquivalent des Anions dieser Säure unterscheidet sich folgendermaßen von den Äquivalenten der 3 möglichen Anionen der Orthophosphorsäure H_3PO_4:

Äquivalentgewicht	des	1 wertigen	Anions	H_2PO_4'	: 97,056
„	„	5 „	„	$H_4(PO_4)_3'''''$	: 57,83
„	„	2 „	„	HPO_4''	: 48,024
„	„	3 „	„	PO_4'''	: 31,68.

An 2 Tieren wurde der Einfluß des Karlsbader Wassers studiert, an 2 anderen Tieren der des erwähnten Sulfatgemisches. Dieses Sulfatgemisch hatte die molare Konzentration des Karlsbader Wassers (ca. 0,160 g-Mole im Liter) und enthielt die Kationen K, Na, Ca, Mg in denselben Verhältnissen, wie sie in der Tyrodeschen Nährlösung enthalten sind, von Anionen ausschließlich Sulfat. Um auch eine geringfügige Chloridbeimengung zu vermeiden, wurde das Calcium als Acetat der fertigen Lösung zugesetzt, was sich ohne jegliche Trübung bewerkstelligen ließ. Dieser Vergleichsversuch bezweckte, den reinen Einfluß des Sulfations festzustellen, unabhängig von anderen Anionen und auch unabhängig von einer Änderung des physiologischen Kationenverhältnisses, einerseits mit Rücksicht auf die beobachtete Wirkung des Karlsbader Wassers, welche zunächst als Komplexwirkung von Kationen und Anionen anzusehen war; andererseits konnte sich in diesem Kontrollversuche ein Ersatz des Chlorids im Organismus durch Sulfat ohne die Hemmung der bei den Mineralwasserversuchen gleichzeitig erfolgenden nicht unerheblichen Chloridzufuhr deutlicher äußern. Ich hoffte also, durch diesen Kontrollversuch festzustellen, ob die beobachtete Mineralwasserwirkung unabhängig von Kationen, Chlorid- und Hydrokarbonation, vorwiegend durch das Sulfation hervorgerufen wird.

Mit diesem Sulfatgemisch wurde außerdem eine Reihe von physiologischen Versuchen hinsichtlich seiner Eignung als Nährlösung ausgeführt. Diese erwiesen eine völlige Gleichheit des Sulfatgemisches mit Frosch-Ringerlösung am Froschherzen und der Tyrodeschen Lösung am Kaninchendarm, während am Meerschweinchenuterus eine geringe Tonuszunahme beobachtet wurde. Im Vergleiche dazu wurde die Wirkung von Karlsbader Wasser an den gleichen Versuchsobjekten untersucht: Auch das Karlsbader Wasser erwies sich am Froschherzen ganz gleichwertig der Ringerlösung, während am Darm und Uterus Tonuszunahme und eine positiv inotrope Wirkung beobachtet wurden. Diese Wirkung ist entweder der Hypotonie des Karlsbader Wassers oder dem Verhältnisse seiner Kationen zuzuschreiben. Der Gleichgültigkeit des Karlsbader Mineralwassers für das Froschherz entsprach die Wirkungslosigkeit auf Atmung und Blutdruck von Kaninchen bei intravenöser Injektion, selbst bis zu einem Betrage von 100 ccm innerhalb einer halben Stunde an einem ca. 1000 g schweren Tiere,

dem also in dieser Zeit nahezu das gleiche Flüssigkeitsvolumen eingeführt wurde, als seine Blutmenge beträgt. Auch wiederholte Injektionen haben keinen nachteiligen Einfluß gehabt. Es wurden innerhalb 8 Tagen täglich 10 ccm Mühlbrunn körperwarm einem Kaninchen in eine Ohrvene injiziert, das Tier zeigte weder Gewichtsänderung, noch verminderte Freßlust, noch auch eine veränderte Diurese oder Kotentleerung*).

Auf die Wiedergabe der bei den Experimenten aufgenommenen Kurven verzichte ich wegen Raummangels und verweise bezüglich der Methodik auf den letzten Teil dieser Arbeit.

In den beiden Versuchsreihen verhielten sich die Paralleltiere nicht ganz gleich. Von der Wirkung des Karlsbader Wassers auf ausschließlich mit Hafer ernährte Kaninchen wissen wir aus zahlreichen Versuchen, daß es 1. von den Tieren begierig getrunken wird, sie trinken meist erheblich mehr davon als von Süßwasser und 2. daß die Ausnutzung der Nahrung wesentlich gefördert wird, was in der Beschaffenheit des Kotes und der Kalkbilanz zum Ausdrucke kommt. Der Kot ist, wie schon Sgalitzer berichtet hat, meist fester und lichter und enthält weniger Kationen. In dieser Beziehung zeigte nur je ein Tier der beiden Reihen eine positive Reaktion. Tier B trank im Tagesdurchschnitte der Vor- und Nachperiode 84 ccm Süßwasser gegenüber 154 ccm Karlsbader Wasser in den beiden Hauptperioden, Tier A trank im Tagesdurchschnitt 61 ccm Süßwasser, dagegen nur 76 ccm Karlsbader Wasser. Tier D trank im Tagesdurchschnitt 250 ccm Süßwasser, aber 388 ccm Sulfatwasser, Tier C trank im Tagesdurchschnitt 233 ccm Süßwasser, dagegen nur 263 ccm Sulfatwasser. Die größere Flüssigkeitsaufnahme in den Vorperioden bei den Tieren C und D erklärt sich aus dem Umstande, daß diese Tiere im heißen Juli im Versuche waren, während A und B in dem damals kühlen April im Versuche standen.

*) Auch beim Menschen erwies sich die intravenöse Infusion von Karlsbader Wasser als unschädlich. Es wurden innerhalb etwa 10 Minuten 450 ccm steril an der Quelle aufgefangenen Sprudels nach Abkühlung auf Körpertemperatur injiziert, ohne daß abnorme Empfindungen oder Erscheinungen von seiten des Blutdruckes, der Pulszahl, der Atmung, Diurese und Temperatur weder unmittelbar nachher noch auch in den nächsten Stunden beobachtet werden konnten. Für die Ausführung der intravenösen Injektion sei auch an dieser Stelle Herrn Dr. Otto Löw in Karlsbad bester Dank ausgesprochen.

Was die Körpergewichtskurve anbelangt, so blieb Tier A annähernd gleichgewichtig. Tier B erlitt in der Nachperiode einen Gewichtssturz von ca. 50 g, gleichzeitig wurde die Stickstoffbilanz viel weniger positiv. Kaninchen D erlitt in der Vorperiode aus unbekannten Gründen einen Gewichtssturz von fast 100 g in 5 Tagen, der mit negativer N-Bilanz einherging; in den 3 nachfolgenden Versuchsperioden blieb das Körpergewicht konstant. Kaninchen C erlitt ebenfalls aus unbekannten Gründen in der zweiten Hauptperiode einen plötzlichen Gewichtssturz von 90 g innerhalb eines Tages mit stark negativer N-Bilanz und Vermehrung der Ätherschwefelsäure im Harn, dem im weiteren Verlaufe zwar kein Wiederansatz folgte, der aber auch nicht fortschritt. Trotz dieser Unterschiede ergab sich in allen Versuchen hinsichtlich des Anionenhaushaltes ein qualitativ gleiches Resultat, welches aber bei je einem der beiden zusammengehörigen Tiere viel deutlicher zum Ausdrucke kam, als bei dem anderen gleichzeitig im Parallelversuche gehaltenen Tiere.

I. Tränkung mit Karlsbader Mineralwasser.

Die folgenden Tabellen zeigen die Bilanzen der 3 untersuchten Anionen Cl', SO_4'' und $H_4(PO_4)_3'''''$ in den 4 Versuchsperioden.

Tabelle I. Kaninchen A.

Versuchsperiode	Periodendauer	Tränkflüssigkeit	Körpergewicht am Anfang u. Ende der Periode	Anionenbilanzen in Milligramm-Äquivalenten				$H_4(PO_4)_3'''''$-Ausscheidung %	
				Cl'	SO_4''	$H_4(PO_4)_3'''''$	Summe	Harn	Kot
I	je 8 Tage	Leitungswasser	2010—2010	+8,12	±0	−7,34	+0,78	80,1	19,9
II		Mühlbrunn	2025—2005	+4,47	+1,25	−1,75	+3,37	77,6	22,3
III		"	2015—2020	+4,87	−2,47	−1,86	+0,34	76,5	23,5
IV		Leitungswasser	2000—2005	+4,03	+4,52	−8,02	+0,63	85,0	15,0

Tabelle II. Kaninchen B.

Versuchsperiode	Periodendauer	Tränkflüssigkeit	Körpergewicht am Anfang u. Ende der Periode	Cl'	SO_4''	$H_4(PO_4)_3'''''$	Summe	Harn	Kot
I	je 8 Tage	Leitungswasser	2010—1980	+3,45	±0	−19,42	−15,97	75,9	24,1
II		Mühlbrunn	2005—2005	+5,77	+2,65	− 3,86	+ 4,56	85,3	14,7
III		"	1970—1970	+6,10	+4,19	+ 1,02	+11,31	86,6	13,4
IV		Leitungswasser	1945—1920	+1,80	−6,84	−14,98	−20,02	87,6	12,4

Was die Sulfatbilanz anlangt, sei zunächst das oben über die Berechnung Gesagte wiederholt: Als Nettoeinnahmen des Sulfats wurden bloß die mit dem Tränkwasser zugeführten Sulfatmengen gebucht, da der Hafer keine in Betracht kommenden an-

organischen Sulfatmengen enthält, als Nettoausgaben das Gesamtsulfat des Harnes abzüglich jenes Wertes, welcher sich für Nahrung und Zellverschleiß aus den Werten der Vorperioden ergibt. Infolgedessen ist die Sulfatbilanz der Vorperiode allemal ±0 (da das Leitungswasser nur sehr geringe Sulfatmengen enthält). Die Werte für die Bilanzen der 3 Anionen sind in Milligramm-Äquivalenten ausgedrückt, um eine Gesamtanionenbilanz aufstellen zu können.

Bezüglich der Chloridbilanz haben sich die beiden Tiere insofern nicht ganz gleich verhalten, als die bei beiden Tieren in der Vorperiode positive Bilanz bei A in den Versuchsperioden unter Wahrung des Ansatzes weniger positiv wurde, bei B dagegen während des Mineralwasserregimes noch mehr Chlor angesetzt wurde, als in der Norm.

Von Sulfat hat Tier B während der Versuchsperiode deutliche Mengen angesetzt, in der Nachperiode aber alles Sulfat wieder abgegeben. Tier A dagegen verhielt sich anders, es schließt auch nach der Nachperiode mit einem kleinen Gewinn von Sulfat ab. Die Tatsache, daß in der dritten Periode bei diesem Tiere die Sulfatbilanz negativ ist, dagegen in der Nachperiode stark positiv wird, ist nicht deutbar, hängt vielleicht mit der willkürlichen Berechnung der Sulfatbilanz zusammen, die aber durch eine andere Berechnungsweise nicht ersetzt werden konnte. Bei beiden Tieren ist aber deutlich zu sehen, daß von einem Ansatze von Sulfat auf Kosten des Chlorids keinesfalls die Rede sein kann, so daß ein Ersatz von Chlorid durch Sulfat im Organismus sicherlich nicht stattfindet. Hierbei ist zu bedenken, daß sich im Karlsbader Wasser die Äquivalente $Cl : SO_4$ wie 1 : 2,03 verhalten. Im Ansatze ist selbst von einem derartigen Verhältnisse keine Rede. Bemerkenswert ist jedenfalls, daß bei beiden Tieren das aufgenommene Sulfat vollkommen resorbiert wurde. Im Kot wurde so gut wie gar nichts ausgeschieden. Dies steht im Einklang mit den Befunden von Kionka, Weise und F. Best, welche die Resorbierbarkeit von Sulfaten durch den Darm experimentell geprüft haben.

Hinsichtlich dieser beiden Anionen sind die Versuche also vollkommen negativ verlaufen. Man kann nur zusammenfassend aussagen: Das Sulfat des Mineralwassers wird vom Kaninchen vollkommen resorbiert, wird nur während der Dauer der Darreichung

im Organismus gespeichert und verläßt ihn nach Aufhören der Zufuhr wieder vollständig. Während der Dauer der Mineralwasserzufuhr verliert der Organismus kein Chlor.

Anders und einheitlicher sind die Ergebnisse der Phosphorsäurebilanz. Die gesamte Phosphorsäure von Hafer und Kot ist nach den obigen Ausführungen als anorganisches Phosphat angesehen. In den Normalperioden sind die Phosphorsäurebilanzen stark negativ, ein Hinweis auf die unzweckmäßige, einseitige Ernährung. Das um so mehr, als die Tiere in den engen Stoffwechselkäfigen kaum nennenswerte Bewegungen ausführen können und daher die bei der Muskelaktion freiwerdende Phosphorsäure (Engelmann) hier nur eine untergeordnete Rolle spielen kann. Das im Stoffwechsel bei der Tätigkeit wahrscheinlich aller Zellen, nicht nur der Muskelzellen, sondern auch der Nerven- und Drüsenzellen freiwerdende Phosphat stellt eigentlich keine Stoffwechselschlacke dar, insofern es als solches glatt wieder zum Aufbau der organischen Phosphorsäureverbindungen des Zelleibes Verwendung finden kann und zum Teil auch findet (Embden und seine Schüler). Über die Ursachen, warum dies nicht vollständig geschieht und beim Erwachsenen eine negative Phosphatbilanz schon in der Norm (wie hier), bei bestimmter Ernährung eintreten kann, sind nur Vermutungen möglich. Die Phosphorsäure verläßt den Kaninchenorganismus durch Harn und Kot und zwar bei Hafernahrung etwa zu $^3/_4$ der Gesamtausscheidung im Harn und zu $^1/_4$ im Kot. Die im Harn ausgeschiedene Phosphorsäuremenge ist nach O. Loewi im Gegensatz zu Harnstoff und Chlorid unabhängig von der Diurese, er schließt daher auf eine echte Sekretion in den Tubulis, läßt aber auch eine Glomerulusfiltration für überschüssige (d. i. intravenös injizierte) Phosphorsäure zu, deren Ausfuhr mit steigender Wasserausscheidung ansteigt. Aus dem Umstande, daß gesunde Säuglinge bei Brustnahrung so gut wie keine Phosphorsäure ausscheiden (Moll) läßt sich nicht etwa der Schluß ziehen, daß die Ausscheidung lediglich durch aktive, vom Bedarf des Organismus abhängige Sekretion erfolge, da auch das passiv in den Glomerulis abfiltrierte Kochsalz bei Kochsalzmangel durch Rückresorption nahezu vollständig zurückbehalten wird. Zu einem Teile verliert der Organismus also wohl rein passiv Phosphorsäure im Harn, ob eine Rückresorption stattfinden kann, ist nicht untersucht. Zu einem anderen Teile kann er aber, wenigstens beim

Herbivoren die Phosphorsäureausscheidung im Harn zur Regulation der aktuellen H-Ionenkonzentration des Organismus verwenden. Der Herbivore, welcher bei Acidose kaum nennenswerte Ammoniakmengen zur Neutralisation aufbringt, kann sich in der Tat irgendwelcher überschüssiger H-Ionen, ohne die lebenswichtigen Hydrokarbonate heranzuziehen, auf dem Wege der Phosphorsäureausscheidung entledigen, wenn angenommen wird, daß er in einer, allerdings noch nicht bekannten Weise das im Glomerulus abfiltrierte physiologische Ion $H_4(PO_4)_3$ beim Passieren des provisorischen Harnes durch die Harnkanälchen unter Ausscheidung des Ions H_2PO_4 in das Ion HPO_4 verwandelt und dieses zurückbehält, welches Ion bei der Rückkehr in den Kreislauf neue H-Ionen unter Restitution zum Ion $H_4(PO_4)_3$ binden kann. Wenn diese auf der Ludwigschen Filtrationstheorie der Harnsekretion fußende Anschauung richtig ist, wird eine Acidose beim Kaninchen von erheblichen Phosphatverlusten begleitet sein müssen. Würtz fand in der Tat bei der experimentellen chronischen Säurevergiftung des Kaninchens vermehrte Phosphorsäureausscheidung, und Noorden führt einige Analysen an, aus denen hervorgeht, daß bei diabetischer Acidose das Verhältnis N : P zugunsten der Phosphorsäure verschoben ist, und daß diese vermehrte Phosphorsäureausscheidung durch Natriumhydrokarbonat dem Normalwerte wieder genähert werden kann. Ausschließlich mit Hafer ernährte Kaninchen entleeren stets lakmussauren Harn.

Der zweite Ausscheidungsweg der Phosphorsäure, der Darm, ist hinsichtlich seiner Einzelheiten auch noch nicht genügend gekannt. Man nimmt an, daß ein um so größerer Teil der Phosphorsäure im Kote erscheint, je mehr Erdalkalien, insbesondere Kalk, ausgeschieden werden, für welche der Darm der Hauptausscheidungsort sein soll, daß also die Phosphorsäure sozusagen passiv mit dem Ca im Kot mitausgeschieden wird. Aber der Kaninchenkot enthält nicht nur Erdalkalien, sondern auch reichlich, wenn auch weniger als der Harn, Kalium und Natrium, welche, da er neutral reagiert, und so gut wie keine anderen Anionen als Phosphorsäure enthält, auch an Phosphorsäure gebunden sein müssen. Dieser Teil der Phosphorsäureausscheidung muß also von einem anderen Gesichtspunkte betrachtet werden. Er ist unabhängig vom Calcium, also nicht passiv, sondern aktiv. Denn daß es sich um die Ausscheidung unresorbierter Phosphorsäurereste der Nahrung

handeln sollte, ist höchst unwahrscheinlich, namentlich mit Rücksicht auf die glatte Resorbierbarkeit der Chloride und Sulfate. Es wird daher damit zu rechnen sein, daß der Herbivorenorganismus das im Stoffwechsel entstehende Phosphat nicht nur deshalb nicht wieder vollständig verwendet, weil er sich seiner überschüssigen H-Ionen auf dem Wege der Phosphatausscheidung im Harn entledigt, sondern daß auch noch aus anderen bisher unbekannten Gründen Phosphorsäure zu Verlust geht.

Wie sich die Phosphorsäurebilanz des Erwachsenen bei normaler Ernährung verhält, ist nicht hinreichend bekannt. Beim gesunden Erwachsenen und bei zureichender Nahrung sollte a priori Phosphorsäuregleichgewicht bestehen und auch bei stark wechselndem Phosphorsäuregehalt der Nahrung brauchte das Gleichgewicht in Anbetracht der möglichen Wiederverwendung des im Stoffwechsel anfallenden freien Phosphates nicht gestört zu werden. In der Tat werden aber bei positiver N-Bilanz wechselnde P-Bilanzen (positive und negative) beobachtet, wenn auch ein Parallelgehen beider Bilanzen der häufigere Fall zu sein scheint (Noorden). Die näheren Einblicke sind auch hier noch versagt. Eine Zeit lang wird wohl der Organismus aus den großen Phosphorsäuredepots in den Knochen eine Unterbilanz decken können, aber auf die Dauer wird eine negative Phorphorsäurebilanz bei der Lebenswichtigkeit dieses Anions zu schweren Störungen der Organfunktionen führen müssen.

Es sei gleich hier auf einen Parallelismus zwischen Calciumbilanz und Phosphorsäurebilanz hingewiesen, der schon von anderer Seite beobachtet wurde und auch bei den Versuchen mit Karlsbader Wasser zu Tage tritt.

Die bei allen Hafertieren beobachtete, stark negative Phosphorsäurebilanz der Vorperiode ist durch die Mineralwasserzufuhr wesentlich beeinflußt worden und zwar in dem Sinne, daß zwar nur in einer der 4 Versuchsperioden beider Tiere ein geringfügiger Phosphatansatz zu verzeichnen war, aber doch durchgehend die Phosphorsäureverluste während des Karlsbader Regimes auf einen Bruchteil der Verluste in der Vor- und Nachperiode herabgedrückt wurden. In den Nachperioden stellte sich sofort wieder der auf die unzweckmäßige Ernährung zurückgeführte starke Phosphorsäureverlust wieder ein. Ganz so verhielt sich die Beeinflussung der Kalkbilanzen durch Karlsbader Wasser bei den

Tieren Sgalitzers. Auch hier wurde die in der Vorperiode stark negative Bilanz beträchtlich weniger negativ. Die Verteilung der Phosphorsäure auf Harn und Kot hat sich bei Tier A unter dem Einflusse des Karlsbader Wassers nicht wesentlich geändert, während bei Tier B eine Verminderung der Ausscheidung im Kot zugunsten der Harnausscheidung eintrat.

Betrachtet man die Gesamtanionenbilanz, so findet man bei Tier B in der Vor- und Nachperiode eine negative, in beiden Hauptperioden eine positive Bilanz, wobei jedoch die angesetzten Anionen den Organismus in der Nachperiode wieder vollkommen verlassen. Bei Tier A ist die Gesamtbilanz der Anionen während des ganzen Versuches positiv, in der ersten Hauptperiode deutlich positiv, in den 3 übrigen Versuchsperioden nahe dem Gleichgewichte, so daß der ganze Versuch mit einem Gewinn an Anionen abschließt. Aber auch dieser ist mit 6 Milligrammäquivalenten sehr geringfügig und steht in gar keinem Verhältnis zu den hohen Werten für Kationenansatz (55—56 Milligr.-Äquiv.) die Sgalitzer bei Verabreichung desselben Mineralwassers in annähernd gleichen Zeiten bei seinen Kaninchen gefunden hatte. Da ich nicht annehmen kann, daß sich meine Tiere in dieser Hinsicht ganz anders verhielten, so muß ich daraus schließen, daß der weitaus größere Teil der unter dem Einflusse des Mineralwassers angesetzten Kationen entweder dem Hydrokarbonation verbunden, oder aber an Eiweiß gebunden retiniert worden ist. Jedenfalls wird man über diese interessante Erscheinung in besonderen, Anionen und Kationen berücksichtigenden Versuchen Aufschluß suchen müssen.

II. Tränkung mit Sulfatgemisch.

Der Vergleichsversuch mit dem Sulfatgemisch wurde in derselben Versuchsanordnung an den Kaninchen C und D angestellt, bei welchen in den beiden Hauptperioden statt des Karlsbader Wassers das oben gekennzeichnete Gemenge von Sulfaten gereicht wurde.

Für die folgenden Tabellen gilt das gleiche, wie das oben sub I Ausgeführte.

Auch bei diesen Tieren waren die Chloridbilanzen während der ganzen Versuchsdauern positiv. Der Ansatz ging während des Sulfatregimes nur unbedeutend zurück. Die Tiere hielten also während der Versuchsperioden etwas weniger Chlor zurück, als in der Vor- und Nachperiode.

Tabelle III. Kaninchen C.

Versuchsperiode	Periodendauer	Tränkflüssigkeit	Körpergewicht am Anfang u. Ende der Periode	Anionenbilanzen in Milligramm-Äquivalenten				$H_4(PO_4)_3''''''$-Ausscheidg. %	
				Cl'	SO_4''	$H_4(PO_4)_3''''''$	Summe	Harn	Kot
I	5 Tage	Leitungswasser	2500—2420	+4,12	±0	− 8,78	− 4,66	63,2	36,8
II		Sulfat	2450—2450	+4,05	+ 6,51	+ 1,45	+12,01	69,5	30,5
III		„	2450—2370	+3,74	±0	− 8,22	− 4,48	69,8	30,2
IV		Leitungswasser	2370—2330	+5,82	− 5,0	+ 0,82	+ 1,64	67,0	33,0

Tabelle IV. Kaninchen D.

Versuchsperiode	Periodendauer	Tränkflüssigkeit	Körpergewicht	Cl'	SO_4''	$H_4(PO_4)_3''''''$	Summe	Harn	Kot
I	5 Tage	Leitungswasser	2550—2440	+2,66	±0	−20,36	−17,70	46,7	53,3
II		Sulfat	2450—2430	+1,92	+15,47	− 4,16	+12,50	51,7	48,3
III		„	2415—2460	+3,08	+13,65	+?	+17(?)	?	?
IV		Leitungswasser	2440—2470	+4,94	− 3,88	+13,23	+14,25	69,8	30,2

Hinsichtlich der Sulfatbilanzen verhielten sich die beiden Tiere nicht ganz gleich: Tier C setzte während der Sulfatdarreichung wenig, Tier D beträchtliche Mengen Sulfat an, C gab diesen Ansatz in der Nachperiode fast ganz wieder ab, bei D dagegen schloß der Versuch mit einem nicht unerheblichen Gewinn an Sulfat ab. Aber gerade bei diesem Tiere ist die Chloridbilanz während der Hauptperioden gegen die Vor- und Nachperiode nahezu unverändert geblieben. so daß man auch bei reiner Sulfattränkung eine Verdrängung resp. einen Ersatz von Chlorid durch Sulfat nicht feststellen kann. Auch hier zeigte sich durch Untersuchung des Kotes, daß das Sulfat vollständig resorbiert worden war. Auch hier wird das Sulfat während der Zeit der Tränkung bis zu einem gewissen Grade zurückgehalten und nachher mehr minder rasch wieder abgegeben.

Die Phosphatbilanzen sind nur scheinbar etwas anders ausgefallen, als bei den Mühlbrunntieren. Auch hier stark negative Phosphorsäurebilanzen in den Vorperioden als Ausdruck der unzweckmäßigen Ernährung. Bei beiden Tieren zeigte sich in der Hauptperiode eine auffällige Verbesserung der negativen Phosphorsäurebilanz, bei D weit deutlicher und ungefähr in der Größenordnung der Mühlbrunntiere, bei C unbedeutender, bei D wird die negative Phosphorsäurebilanz in der Nachperiode in eine deutlich positive Bilanz umgewandelt. Das Tier C möchte ich hier überhaupt ausschließen, weil es in der zweiten Hauptperiode einen unmotiviert gebliebenen Gewichtssturz von 80 g erlitten hat, welcher mit einer gegen die erste Hauptperiode stark negativen P-Bilanz,

negativen N-Bilanz, Vermehrung des Kot-N und der Ätherschwefelsäuren im Harne einhergegangen ist. Lassen wir diese Periode aus, so sehen wir die negative Phosphorsäurebilanz unter dem Einflusse des Sulfatgemisches nicht nur weniger negativ, sondern sogar positiv werden, so daß Übereinstimmung bei beiden Tieren und mit den Ergebnissen bei den Mineralwassertieren festgestellt werden kann. Ein Unterschied besteht aber in den Nachperioden beider Tiere gegen jene der mit Mineralwasser Getränkten: während bei diesen die Verbesserung der Phosphorsäurebilanz in der Nachperiode wieder vollständig verschwindet, macht sie bei den Sulfattieren in der Nachperiode noch erhebliche Fortschritte. Ob daraus auf eine besondere, im Karlsbader Wasser durch das Chloridion gehemmte Sulfatwirkung geschlossen werden kann, müssen weitere Untersuchungen entscheiden. Die Phosphorsäureverteilung auf Harn und Kot ist bei diesen Tieren schon in der Norm anders als bei den Mühlbrunntieren, beide scheiden in der Norm verhältnismäßig viel mehr Phosphorsäure im Kot aus. Während der Sulfattränkung verbessert sich zwar das Verhältnis zugunsten des Harnes, aber nun unbedeutend.

Die Gesamtbilanz der Anionen ist auch bei diesen Tieren in der Vorperiode negativ, wird (mit Außerachtlassung der 3. Periode bei C) in den Hauptperioden positiv und bleibt auch positiv in den Nachperioden. Es werden also zweifellos während der Sulfatdarreichung Anionen angesetzt und zwar auffallenderweise das Phosphation, welches ja gar nicht zugeführt wurde, in erheblicherem Maße, als das dargebotene Sulfat. Diese Wirkung des Sulfats ist höchst bemerkenswert, zumal bei dem Mangel an Hydrocarbonat in der Tränkungsflüssigkeit nicht daran gedacht werden kann, daß etwa die Zurückhaltung der Phosphate hier bedingt wäre durch Einführung eines Anions, welches zur Regelung der aktuellen Reaktion verwendet wird und daher die Ausscheidung des Phosphations überflüssig macht, woran beim Kaninchen (siehe oben) auch zu denken wäre. Es scheint hier tatsächlich eine besondere Wirkung des Sulfations vorzuliegen, die nicht leicht zu beurteilen ist, insofern wir zunächst nicht wissen können, ob unter dem Einflusse des Sulfats weniger Phosphat frei wird, oder aber die Wiederverwendung des im Organismus im gleichen Ausmaße entstandenen Phosphates gefördert wird.

Hält man beide Versuchsreihen zusammen, so kann man im allgemeinen sagen:

1. Das Sulfat des Karlsbader Wassers wird vollkommen resorbiert. Es wird nur während der Dauer der Zuführung teilweise zurückgehalten und ist dabei ohne Einfluß auf den Chloridwechsel des Organismus.

2. Die Hauptwirkung liegt auf dem Gebiete der Phosphate. Unter dem Einflusse des Karlsbader Wassers werden die Phosphate in höherem Maße im Organismus zurückbehalten.

3. Dabei werden gegenüber der Norm Anionen angesetzt, allerdings in viel geringerem Ausmaße, als Kationen angesetzt werden.

4. Die gleiche Wirkung haben reine, hinsichtlich der Kationen physiologisch gemengte Sulfate, so daß die Wirkung, die unter dem Einfluß des Karlsbader Wassers an Tieren beobachtet wird, nicht nur als eine Wirkung der spezifischen Kationenmischung, sondern auch als eine Wirkung des Überwiegens des Sulfations im Karlsbader Wasser angesehen werden kann.

Weitere Versuche sollen dartun, ob diese Wirkung eine für das Sulfation spezifische ist, oder ob auch das Chloridion analoge Wirkungen herbeiführen kann. Die direkten Wirkungen auf den Ansatz der Anionen sind jedenfalls viel geringfügiger als auf den der Kationen. Dagegen tritt die indirekte Wirkung auf das Phosphation sehr deutlich hervor. Daß unter Umständen eine Wirkung auf die Ausscheidung der Phosphate der Ausdruck von sehr wesentlichen Wirkungen auf den Stoffwechsel sein kann, beweisen u. a. die Beobachtungen Molls über die Phosphatausscheidungen bei gesunden und ernährungsgestörten Säuglingen.

Auf einen Punkt sei zum Schluß noch hingewiesen: Sowohl unter dem Einflusse des Karlsbader Wassers, als auch der reinen Sulfate sank die S-Ausscheidung im Kot (wenn wir vom Kaninchen A hierbei absehen).

Hinsichtlich der N-Ausscheidung im Kote sehen wir bei beiden Mühlbrunntieren eine schon in den Hauptperioden einsetzende, in der Nachperiode besonders deutliche Herabsetzung und das gleiche beim Sulfattier D, während sich beim Sulfattier C, auch abgesehen

Tabelle V. Kaninchen A.

Versuchs-periode	Perioden-dauer	Tränkflüssigkeit	N-Bilanz in Grammen	N-Ausscheidung in % Harn	N-Ausscheidung in % Kot	Trockengehalt des Kotes in %	100 g Hafer liefern in den Kot in Grammen N	100 g Hafer liefern in den Kot in Grammen S
I	8 Tage	Leitungswasser	+1,0284	82,7	17,3	79	0,2314	0,0578
II		Mühlbrunn	+1,3089	81,9	18,1	94	0,2269	0,0649
III		„	+0,4454	84,3	15,7	82	0,2254	0,0744
IV		Leitungswasser	+0,5662	91,5	8,5	73	0,1171	0,0452

Tabelle VI. Kaninchen B.

Versuchs-periode	Perioden-dauer	Tränkflüssigkeit	N-Bilanz in Grammen	N-Ausscheidung in % Harn	N-Ausscheidung in % Kot	Trockengehalt des Kotes in %	100 g Hafer liefern in den Kot in Grammen N	100 g Hafer liefern in den Kot in Grammen S
I	8 Tage	Leitungswasser	+1,0442	79,4	20,6	77	0,2695	0,0655
II		Mühlbrunn	+1,0519	85,3	14,7	97	0,1932	0,0576
III		„	+1,5954	86,6	13,4	95	0,1689	0,0461
IV		Leitungswasser	+0,1082	87,7	12,3	74	0,0933	0,0654

Tabelle VII. Kaninchen C.

Versuchs-periode	Perioden-dauer	Tränkflüssigkeit	N-Bilanz in Grammen	N-Ausscheidung in % Harn	N-Ausscheidung in % Kot	Trockengehalt des Kotes in %	100 g Hafer liefern in den Kot in Grammen N	100 g Hafer liefern in den Kot in Grammen S
I	5 Tage	Leitungswasser	+0,9975	81,3	18,7	79	0,2431	0,0543
II		Sulfat	+0,7117	80,1	19,9	94	0,2690	0,0496
III		„	−1,4133	83,7	16,3	89	0,3282	0,0431
IV		Leitungswasser	−0,4641	84,9	15,1	91	0,2531	0,0469

Tabelle VIII. Kaninchen D.

Versuchs-periode	Perioden-dauer	Tränkflüssigkeit	N-Bilanz in Grammen	N-Ausscheidung in % Harn	N-Ausscheidung in % Kot	Trockengehalt des Kotes in %	100 g Hafer liefern in den Kot in Grammen N	100 g Hafer liefern in den Kot in Grammen S
I	5 Tage	Leitungswasser	−0,8906	68,8	31,2	67	0,5596	0,0687
II		Sulfat	−0,4034	70,3	29,7	64	0,4963	0,0541
III		„	+ ?	?	?	84	0,2509	0,0462
IV		Leitungswasser	+0,7010	79,9	20,1	84	0,2677	0,0519

von der wiederholt erwähnten Störung des Allgemeinbefindens in der zweiten Hauptperiode, keine Verbesserung in der Ausnutzung der N-haltigen Nahrungsstoffe nachweisen ließ.

Im großen und ganzen zeigte sich aber doch unter dem Einflusse des Karlsbader Wassers und des reinen Sulfatwassers eine bessere Ausnutzung der gereichten Nahrung, die denn auch in einer analogen Besserung der Gesamt-N-Bilanz zum Ausdrucke kommt.

Methodik der Versuche.

Da die Methodik der Fütterung, Tränkung und Haltung der Tiere, sowie die der Gewinnung des Analysenmaterials bereits S. 7 besprochen ist, erübrigt sich nur noch die Anführung der angewendeten analytischen Verfahren.

Harn: Die zu jeder Periode gehörigen vereinigten Tagesportionen + Spülwasser wurden auf ein rundes Volumen mit Wasser aufgefüllt und mit Toluol versetzt. Die Chloride wurden nach Moraczewski bestimmt: Feuchte Veraschung durch konz. HNO_3 bei Anwesenheit von gemessenen

Mengen $^n/_{10}$-$AgNO_3$, deren unverbrauchter Überschuß nach Volhardt zurücktitriert wurde. Zum Teil wurde auch direkt nach Volhardt analysiert, nach vorhergegangener Klärung des Harnes mit chlorfreiem Kieselgur, was vollkommen identische Werte ergab. Nebenbei sei bemerkt, daß hieraus auf eine Abwesenheit von organischen Chlorverbindungen im Kaninchenharn bei Haferfütterung geschlossen werden kann. Die anorganischen Sulfate wurden nach vorheriger Klärung mit kolloidalem Eisenhydroxyd nach der Folinschen Methode durch Fällung mit $BaCl_2$ und Wägung als $BaSO_4$ bestimmt. Vorversuche hatten ergeben, daß diese Methode der Klärung des sonst sehr schlecht filtrierbaren Kaninchenharnes für Sulfatbestimmungen einwandfrei ist. Zur Bestimmung der Gesamtsulfate wurde der geklärte Harn vor der Fällung $^1/_4$ Stunde mit Salzsäure gekocht. Bei einigen Harnen wurde auch der Gesamtschwefel in der Soda-Salpeterschmelze bestimmt, was sehr kleine Werte für den Neutralschwefel ergab. Zur Phosphatanalyse wurde der Harn nach der modifizierten Neumannschen Methode feucht verascht, sodann nach Woy (Treadwell, Bd. 2, 9. Aufl., S. 373) vorgegangen und schließlich $Mg_2P_2O_7$ zur Wägung gebracht. Eine direkte Fällung ohne vorherige feuchte Veraschung ergab unregelmäßige Werte (bis 5% Differenzen bei Parallelbestimmungen), aber keinen Anhaltspunkt für das Vorhandensein von organischen Phosphor- oder Phosphorsäureverbindungen. Die Uranyltitration bewährte sich für den Kaninchenharn nicht. Der Stickstoff wurde nach Kjeldahl bestimmt.

Kot: Im lufttrockenen, sorgfältigst gemischten in der Reibschale hergestellten Kotpulver wurden die Chloride nach Moraczewski bestimmt und die Phosphate nach Neumann - Woy, wobei die in nicht unbeträchtlichen Mengen vorhandene Kieselsäure vor der Molybdatfällung entfernt werden mußte. Zur Sulfatbestimmung wurde das Kotpulver mit konz. HNO_3 in einer Porzellanschale erst bei Zimmertemperatur stehengelassen, wobei sehr bald Verflüssigung eintrat, dann am Wasserbade mit konz. HNO_3 zur Trockene eingedampft, dann in eine Platinschale übergeführt, mit reichlichem Soda- und Salpeterzusatz eingedampft und nach völligem Trocknen geschmolzen (Spiritusflamme). Die Schmelze wurde mit verdünnter Salzsäure aufgenommen und zur Entfernung der Silicate nach der Vorschrift von Treadwell, Bd. 2, 9. Aufl., S. 415 vorgegangen. Im Filtrate wurde schließlich das Sulfat nach Folin bestimmt. Der Stickstoff wurde nach Kjeldahl bestimmt.

Hafer: Den Tieren wurde als Futter gesiebter Hafer gereicht, aus dem die sichtbaren Verunreinigungen wie Holz, Sand usw. ausgelesen worden waren. Zur Analyse wurde der Hafer in einer kleinen Stahlmühle gemahlen und das Gesamtmehl sorgfältig gemischt. Die einzelnen Anionen und der Stickstoff wurden wie im Kot bestimmt. Parallelanalysen in Hafer und Kot gaben für alle untersuchten Anionen Differenzen von durchschnittlich 2—3%. Die gleichmäßige Mischung des Analysenmaterials spielt eine große Rolle.

Zur Feststellung der präformierten anorganischen Anionen Cl', SO_4'' und $H_4(PO_4)_2''''$ wurden Hafermehl und Kotpulver mit der etwa 10fachen

Menge 2,5 proz. Salpetersäure 24 Stunden bei Zimmertemperatur geschüttelt, die Auszüge scharf abzentrifugiert und in aliquoten Filtratsteilen nach vorheriger Klärung (für Cl Kieselgur, für SO_4 Eisenhydroxyd) die betreffenden Anionen analysiert.

Die Versuche an überlebenden Organen wurden nach der üblichen Methode von Magnus am Kaninchendünndarm und Meerschweinchenuterus angestellt und beim Wechsel der Tyrodelösung einerseits durch Sulfattyrode, andererseits durch Mühlbrunn gründlich ausgewaschen. Zu den Froschherzversuchen wurden etwa 30 g schwere männliche Temporarien verwendet und die Straubsche Versuchsanordnung gewählt.

Tabellarische Darstellung der Versuchsergebnisse.

1000 ccm Prager Leitungswasser enthalten:
0,0599 g SO_4'' = 1,21 mg-Äquivalente; 0,01039 g Cl' = 0,29 mg-Äquivalente.

1000 ccm Karlsbader Mühlbrunn (Flaschenversand) enthalten nach den Angaben des „Österr. Bäderbuches" 1914, S. 289:
1,6946 g SO_4'' = 35,278 mg-Äquivalente; 0,61417 g Cl' = 17,32 mg-Äquival.

1000 ccm des gereichten Sulfatwassers enthielten:
4,2800 g SO_4'' = 89,11 mg-Äquivalente.

100 g verfütterten Hafers enthielten:

Gesamtgehalt:

0,08352 g Cl'	=	2,35 mg-Äquivalente
0,6987 g SO_4''	=	14,55 „
0,8960 g $H_4(PO_4)_3'''''$	=	15,49 „
1,5454 g N		

durch Säure extrahierbar:

0,0817 g Cl'	= 2,30 mg-Äquivalente,	d. i. 100%	des Gesamtgeh.
0,0110 g SO_4''	= 0,33 „	d. i. 1,59% „	„
0,1651 g $H_4(PO_4)_3'''''$	= 2,85 „	d. i. 13,8% „	„

In den folgenden Tabellen IX—XVI sind die Versuchsergebnisse für jedes Tier in 2 Tabellen niedergelegt, die eine enthält die während der 4 Versuchsperioden gewonnenen Daten, in der anderen sind die Ergebnisse der Analysen zusammengestellt. Als Beispiel der Rechnungsart bei den Sulfatbilanzen führe ich hier die der Sulfatbilanz für die erste Hauptperiode bei Tier A aus: in der Normalperiode I wurden bei Aufnahme von 495 g Hafer 0,9695 g SO_4 im Harn ausgeschieden, daher lieferten 100 g Hafer 0,1895 g SO_4. In der Hauptperiode II wurden 453 g Hafer aufgenommen, was daher einem Haferwert von 0,8584 g SO_4 entspräche.

Im Harne wurden ausgeschieden . .	1,8880 g SO_4''	
davon abzuziehen der Haferwert . .	0,8584 g „	
bleiben	1,0296 g SO_4''	
in 643 ccm Mühlbrunn aufgenommen	1,0896 g „	
daher retiniert	+ 0,0600 g SO_4''	= 1,25 mg-Äquiv.

Tabelle IX. Kaninchen A, ♂, 2010 g schwer, 3 Tage zuvor bei Hafer und Leitungswasser im Stoffwechselkäfig gehalten.

I. Vorperiode 18. III.—25. III.; II. 1. Hauptperiode 26. III.—2. IV.; III. 2. Hauptperiode 3. IV.—10. IV.; IV. Nachperiode 11. IV.—18. IV.

Periode	Datum	Körpergewicht g	Harn i. ccm	Kot feucht g	Kot lufttrocken g	Hafer g	Wasser i. ccm	Tagesdurchschnitt der Wasseraufnahme ccm	Tränkflüssigkeit	Anmerkungen
I	18.	2010	30	30	—	75	46	—	Leitungswasser	
	19.	2010	35	30	—	70	80	—		
	20.	2020	30	15	—	70	80	—		
	21.	2010	34	20	—	65	60	—		
	22.	2010	30	15	—	55	60	—		
	23.	2000	32	15	—	55	70	—		
	24.	2010	30	10	—	55	55	—		
	25.	2010	30	10	—	50	66	—		
	Summe:		251	145	115	495	517	64		
II	26.	2025	45	15	—	40	96	—	Mühlbrunn	
	27.	2020	50	12	—	43	82	—		
	28.	2000	45	20	—	55	84	—		
	29.	2035	52	18	—	66	87	—		Kot weich
	30.	2040	40	23	—	63	74	—		Kot weich
	31.	2020	45	22	—	56	60	—		Kot wieder geformt
	1.	2020	60	20	—	63	74	—		
	2.	2005	62	27	—	67	86	—		
	Summe:		399	157	148	453	643	80		
III	3.	2015	?	10	—	65	97	—	Mühlbrunn	Spontane Harnentleer. in d. Nacht; Harn in d. vorgelegt. Schale früh eingetrocknet gefund.
	4.	2035	?	19	—	60	98	—		
	5.	1990	40	37	—	43	36	—		
	6.	2025	40	4	—	50	96	—		
	7.	2020	38	10	—	40	65	—		
	8.	2020	48	10	—	55	66	—		
	9.	2015	40	25	—	49	42	—		
	10.	2020	45	3	—	50	68	—		
	Summe:		?	118	91,5	412	568	71		
IV	11.	2000	48	23	—	49	60	—	Leitungswasser	
	12.	2005	40	10	—	44	54	—		
	13.	2015	40	15	—	55	70	—		
	14.	2025	35	14	—	50	60	—		
	15.	1995	33	20	—	48	40	—		
	16.	2010	36	6	—	45	52	—		
	17.	2010	34	15	—	50	66	—		
	18.	2005	30	14	—	48	54	—		
	Summe:		296	117	85,5	389	456	57		

Tabelle X.

Analysenergebnisse bei Kaninchen A.

Periode	Tränkflüssigkeit		Cl' g	Cl' Milligr.-Äquiv.	SO_4'' g	SO_4'' Milligr.-Äquiv.	$H_4(PO_4)_3'''''$ g	$H_4(PO_4)_3'''''$ Milligr.-Äquiv.	N g
I	Leitungswasser	517 ccm Wasser	0,0054	0,15	0,0315	0,66	—	—	—
		495 g Hafer	0,4133	11,66	3,4586	72,01	4,4353	76,69	7,6498
		Einnahmen	0,4187	11,81	3,4901	72,67	4,4353	76,69	7,6498
		251 ccm Harn	0,0794	2,24	0,9695	20,18	3,8948	67,35	5,4758
		115 g Kot	0,0516	1,45	0,8578	17,83	0,9650	16,68	1,1456
		Ausgaben	0,1310	3,69	1,8273	38,01	4,8598	84,03	6,6214
II	Mühlbrunn	643 ccm Mühlbr.	0,3949	11,14	1,0896	22,68	—	—	—
		453 ccm Hafer	0,3786	10,67	3,1651	65,90	4,0589	70,18	7,0007
		Einnahmen	0,7735	21,81	4,2547	88,58	4,0589	70,18	7,0007
		399 ccm Harn	0,5311	14,98	1,8880	39,35	3,2284	55,83	4,6636
		148 g Kot	0,0837	2,36	0,8817	18,36	0,9309	16,10	1.0282
		Ausgaben	0,6148	17,34	2,7697	57,71	4,1593	71,93	5,6918
III	Mühlbrunn	568 ccm Mühlbr.	0,3488	9,84	0,9625	20,04	—	—	—
		412 g Hafer	0,3443	9,70	2,8787	59,93	3,6916	63,83	6,3672
		Einnahmen	0,6931	19,54	3,8412	79,97	3,6916	63,83	6,3672
		? ccm Harn	0,4468	12,59	1,8618	38,74	2,9082	50,29	4,9930
		91,5 g Kot	0,0739	2,08	0,9193	19,14	0,8908	15,40	0,9288
		Ausgaben	0,5207	14,67	2,7811	57,88	3,7990	65,69	5,9218
IV	Leitungswasser	456 ccm Wasser	0,0047	0,13	0,0273	0,57	—	—	—
		389 g Hafer	0,3245	9,16	2,7180	56,59	3,4855	60,27	6,0116
		Einnahmen	0,3292	9,29	2,7453	57,16	3,4855	60,27	6,0116
		296 ccm Harn	0,1191	3,36	0,9865	20,54	3,3582	58,07	4 9186
		85,5 g Kot	0,0677	1,90	0,5268	11,0	0,5909	10,22	0,4554
		Ausgaben	0,1868	5,26	1,5133	31,54	3,9491	68,29	5,3740

Tabelle XI.

Kaninchen B, ♂ 2020 g schwer, 3 Tage zuvor bei Hafer und Leitungswasser im Stoffwechselkäfig gehalten.

I. Vorperiode 18. III.—25. IV.; II. 1. Hauptperiode 26. III.—2. IV.; III. 2. Hauptperiode 3. IV.—10. IV.; IV. Nachperiode 11. IV.—18. IV.

Periode	Datum	Körper-Gewicht g	Harn ccm	Kot feucht g	Kot lufttrocken g	Hafer g	Wasser ccm	Tagesdurchschnitt der Wasseraufn. ccm	Tränkflüssigkeit	Anmerkungen
I	18.	2010	45	15	—	50	50	—	Leitungswasser	
	19.	1980	55	20	—	50	80	—		
	20.	1980	45	10	—	55	95	—		
	21.	1950	60	20	—	35	85	—		
	22.	1950	60	5	—	50	80	—		
	23.	1955	40	15	—	55	80	—		
	24.	1960	45	20	—	55	90	—		
	25.	1980	52	5	—	55	88	—		
	Summe:		402	110,0	85,0	405	648	81		
II	26.	2005	80	20	—	60	154	—	Mühlbrunn	
	27.	2030	?	26	—	60	148	—		Harn in der Schale eingetrocknet
	28.	2010	90	22	—	65	100	—		
	29.	2010	130	20	—	70	150	—		
	30.	1985	117	30	—	68	150	—		
	31.	1995	128	15	—	63	177	—		
	1.	2000	96	20	—	63	142	—		
	2.	2005	134	15	—	65	178	—		
	Summe:		?	168	164,5	514	1199	150		
III	3.	1970	164	32	—	64	170	—	Mühlbrunn	
	4.	2000	128	4	—	63	172	—		
	5.	2005	165	25	—	68	146	—		
	6.	1975	128	25	—	58	160	—		
	7.	1985	108	20	—	69	156	—		
	8.	1970	152	20	—	70	166	—		
	9.	1980	102	20	—	58	142	—		
	10.	1970	148	15	—	56	156	—		
	Summe:		1035	161	155	506	1268	158		
IV	11.	1945	118	27	—	55	122	—	Leitungswasser	
	12.	1960	66	17	—	53	88	—		
	13.	1940	66	17	—	53	80	—		
	14.	1940	58	10	—	42	76	—		
	15.	1930	72	15	—	42	86	—		
	16.	1925	44	15	—	40	70	—		
	17.	1930	66	17	—	48	87	—		
	18.	1920	66	6	—	40	90	—		
	Summe:		556	124	92,4	373	699	87		

Tabelle XII.

Analysenergebnisse bei Kaninchen B.

Periode	Tränkflüssigkeit		Cl' g	Cl' Milligr.-Äquiv.	SO_4'' g	SO_4'' Milligr.-Äquiv.	$H_4(PO_4)_3$'' '' g	$H_4(PO_4)_3$'' '' Milligr.-Äquiv.	N g
I	Leitungswasser	648 ccm Wasser	0,0067	0,19	0,0388	0,81	—	—	—
		405 g Hafer	0,3382	9,54	2,8297	58,92	3,6292	62,75	6,2590
		Einnahmen	0,3449	9,73	2,8685	59,73	3,6292	62,75	6,2590
		402 ccm Harn	0,1218	3,43	0,8126	16,92	3,6092	62,41	4,1234
		85 g Kot	0,1011	2,85	0,7953	16,56	1,1426	19,76	1,0914
		Ausgaben	0,2229	6,28	1,6079	33,48	4,7518	82,17	5,2148
II	Mühlbrunn	1199 Mühlbr.	0,7364	20,77	2,0320	42,31	—	—	—
		514 g Hafer	0,4292	12,10	3,5913	74,77	4,6055	79,64	7,9434
		Einnahmen	1,1656	32,87	5,6233	117,08	4,6055	79,64	7,9434
		? Harn	0,8908	25,12	2,8932	60,24	4,1199	71,24	5,8984
		164,5 g Kot	0,0702	1,98	0,8883	18,49	0,7093	12,26	0,9931
		Ausgaben	0,9610	27,10	3,7815	78,73	4,8292	83,50	6,8915
III	Mühlbrunn	1268 Mühlbr.	0,7788	21,97	2,1488	44,74	—	—	—
		506 g Hafer	0,4225	11,92	3,5354	73,61	4,5338	78,40	7,8197
		Einnahmen	1,2013	33,89	5,6842	118,35	4,5338	78,40	7,8197
		1135 ccm Harn	0,9078	25,60	2,9205	60,80	3,8732	66,98	5,3696
		155 g Kot	0,0778	2,19	0,7167	14,91	0,6014	10,40	0,8547
		Ausgaben	0,9856	27,79	3,6372	75,71	4,4746	77,38	6,2243
IV	Leitungswasser	699 ccm Wasser	0,0073	0,206	0,0419	0,87	—	—	—
		373 g Hafer	0,3115	8,78	2,6062	54,26	3,3420	57,79	5,7644
		Einnahmen	0,3188	8,986	2,6481	55,13	3,3420	57,79	5,7644
		566 ccm Harn	0,1655	4,66	1,0460	21,78	3,8602	66,75	5,1404
		92,4 g Kot	0,0893	2,52	0,7317	15,24	0,3481	6,02	0,5138
		Ausgaben	0,2548	7,18	1,7777	37,02	4,2083	72,77	5,6542

Tabelle XIII.

Kaninchen C, ♂ 2500 g schwer; 3 Tage zuvor bei Hafer und Leitungswasser im Stoffwechselkäfig gehalten.

I. Vorperiode 7. VII.—11. VII.; II. 1. Hauptperiode 12. VII.—16. VII.; III. II. Hauptperiode 17. VII.—21. VII.; IV. Nachperiode 22. VII.—26. VII.

Periode	Datum	Körpergewicht g	Harn ccm	Kot feucht g	Kot lufttrocken g	Hafer g	Wasser ccm	Tagesdurchschnitt der Wasseraufnahme ccm	Tränkflüssigkeit
I	7.	2500	40	32	—	85	185	—	Leitungswasser
	8.	2470	72	23	—	80	80	—	
	9.	2430	64	20	—	85	80	—	
	10.	2410	76	35	—	80	100	—	
	11.	2420	80	22	—	75	110	—	
	Summe:		332	132	112,9	405	495	99	
II	12.	2450	115	28	—	80	150	—	Sulfat
	13.	2470	120	17	—	85	175	—	
	14.	2450	110	25	—	75	120	—	
	15.	2440	95	18	—	70	115	—	
	16.	2450	88	25	—	65	135	—	
	Summe:		528	113	106,5	375	695	139	
III	17.	2450	80	15	—	73	105	—	Sulfat
	18.	2420	90	30	—	50	105	—	
	19.	2410	98	21	—	58	135	—	
	20.	2355!	85	32	—	55	120	—	
	21.	2370	105	15	—	65	155	—	
	Summe:		458	113	100,5	301	620	124	
IV	22.	2330	95	30	—	70	85	—	Leitungswasser
	23.	2325	75	26	—	70	95	—	
	24.	2350	85	20	—	70	120	—	
	25.	2330	65	20	—	70	75	—	
	26.	2330	70	25	—	70	95	—	
	Summe:		390	121	110,5	350	470	94	

Tabelle XIV.

Analysenergebnisse bei Kaninchen C.

Periode	Tränkflüssigkeit		Cl'		SO_4''		$H_4(PO_4)_2''''''$		N
			g	Milligr.-Äquiv.	g	Milligr.-Äquiv.	g	Milligr.-Äquiv.	g
I	Leitungswasser	495 ccm Wasser	0,0051	0,14	0,0288	0,60	—	—	—
		405 g Hafer	0,3383	9,54	2,8297	58,92	3,6292	62,75	6,2590
		Einnahmen	0,3434	9,68	2,8585	59,52	3,6292	62,75	6,2590
		332 ccm Harn	0,1211	3,42	1,0120	21,07	2,6572	45,95	4,2769
		112,9 g Kot	0,0759	2,14	0,6585	13,71	1,4796	25,58	0,9846
		Ausgaben	0,1970	5,56	1,6705	34,78	4,1368	71,53	5,2615
II	Sulfat	695 ccm Sulfat	—	—	2,9743	61,92	—	—	—
		375 g Hafer	0,3132	8,83	2,6201	54,55	3,3600	58,10	5,7953
		Einnahmen	0,3132	8,83	5,5944	116,47	3,3600	58,10	5,7953
		528 ccm Harn	0,1156	3,26	3,5719	74,37	2,2764	39,36	4,0747
		106,5 g Kot	0,0540	1,52	0,5582	11,62	0,9999	17,29	1,0089
		Ausgaben	0,1696	4,78	4,1301	85,99	3,2763	56,65	5,0836
III	Sulfat	620 ccm Sulfat	—	—	2,6534	55,24	—	—	—
		301 g Hafer	0,2514	7,09	2,1031	43,79	2,6970	46,64	4,6517
		Einnahmen	0,2514	7,09	4,7565	99,03	2,6970	46,64	4,6517
		458 ccm Harn	0,0749	2,11	3,3814	70,40	2,2157	38,31	5,0770
		100,5 g Kot	0,0441	1,24	0,3893	8,11	0,9569	16,55	0,9880
		Ausgaben	0,1190	3,35	3,7707	78,51	3,1726	54,86	6,0650
IV	Leitungswasser	470 ccm Wasser	0,0049	0,14	0,0274	0,57	—	—	—
		350 g Hafer	0,2923	8,24	2,4454	50,92	3,1360	54,23	5,4089
		Einnahmen	0,2972	8,38	2,4728	51,49	3,1360	54,23	5,4089
		390 ccm Harn	0,0454	1,28	1,0899	22,69	2,0686	35,77	4,9873
		110,5 g Kot	0,0456	1,28	0,4915	10,23	1,0203	17,64	0,8857
		Ausgaben	0,0910	2,56	1,5814	32,92	3,0889	53,41	5,8730

Tabelle XV.

Kaninchen D, ♂ 2580 g schwer; 4 Tage zuvor bei Hafer und Leitungswasser im Stoffwechsel gehalten.

I. Vorperiode 8. VII.—12. VII.; II. 1. Hauptperiode 13. VII.—17. VII.; III. 2. Hauptperiode 18. VII.—22. VII. IV. Nachperiode 23. VII.—27. VII.

Periode	Datum	Körpergewicht g	Harn ccm	Kot feucht g	Kot lufttrocken g	Hafer g	Wasser ccm	Tagesdurchschnitt der Wasseraufnahme g	Tränkflüssigkeit
I	8.	2550	95	30	—	75	95	—	Leitungswasser
	9.	2555	120	35	—	70	150	—	
	10.	2510	110	30	—	50	150	—	
	11.	2460	130	35	—	60	150	—	
	12.	2440	100	25	—	60	150	—	
	Summe:		555	155	104,4	315	695	139	
II	13.	2450	175	28	—	65	250	—	Sulfat
	14.	2470	160	35	—	75	260	—	
	15.	2450	110	27	—	65	180	—	
	16.	2450	120	27	—	65	170	—	
	17.	2430	120	34	—	60	170	—	
	Summe:		685	151	96,5	330	1030	206	
III	18.	2415	95	22	—	55	165	—	Sulfat
	19.	2430	120	15	—	60	175	—	
	20.	2450	102	20	—	60	175	—	
	21.	2450	120	25	—	53	175	—	
	22.	2460	100	25	—	65	220	—	
	Summe:		537	107	90,1	293	910	182	
IV	23.	2440	110	28	—	65	135	—	Leitungswasser
	24.	2460	100	22	—	62	145	—	
	25.	2450	65	25	—	70	75	—	
	26.	2440	70	28	—	65	100	—	
	27.	2470	55	7	—	60	95	—	
	Summe:		400	110	92,0	322	550	110	

Tabelle XVI.

Analysenergebnisse bei Kaninchen D*).

Periode	Tränkflüssigkeit		Cl'		SO_4''		$H_3(PO_4)_2'''$		N
			g	Milligr.-Äquiv.	g	Milligr.-Äquiv.	g	Milligr.-Äquiv.	g
I	Leitungswasser	695 ccm Wasser	0,0072	0,20	0,0405	0,84	—	—	—
		315 g Hafer	0,2631	7,42	2,2010	45,82	2,8224	48,80	4,7572
		Einnahmen	0,2703	7,62	2,2415	46,66	2,8224	48,80	4,7572
		555 ccm Harn	0,0977	2,24	0,8284	17,25	1,8782	32,47	3,8850
		104,4 g Kot	0,0963	2,72	0,6484	13,50	2,1220	36,69	1,7628
		Ausgaben	0,1940	4,96	1,4768	30,75	4,0002	69,16	5,6478
II	Sulfat	1030 ccm Sulfat	—	—	4,4081	91,78	—	—	—
		330 g Hafer	0,2756	7,77	2,3057	48,01	2,9568	51,13	5,0998
		Einnahmen	0,2756	7,77	6,7138	139,79	2,9568	51,13	5,0998
		685 ccm Harn	0,1514	4,27	4,4903	93,49	1,6531	28,58	3,8655
		96,5 g Kot	0,0563	1,58	0,5356	11,15	1,5448	26,71	1,6377
		Ausgaben	0,2077	5,85	5,0259	104,64	3,1979	55,29	5,5032
III	Sulfat	910 ccm Sulfat	—	—	3,8945	81,09	—	—	—
		293 g Hafer	0,2477	6,90	2,0472	42,62	2,6253	45,40	4,5280
		Einnahmen	0,2477	6,90	5,9417	123,71	2,6253	45,40	4,5280
		532 ccm Harn	0,1004	2,83	3,9716	82,69	?	?	?
		90,1 g Kot	0,0350	0,99	0,4061	8,45	0,6145	10,63	0,7352
		Ausgaben	0,1354	3,82	4,3777	91,14	?	?	?
IV	Leitungswasser	550 ccm Wasser	0,0057	0,16	0,0321	0,67	—	—	—
		322 g Hafer	0,2689	7,58	2,2498	46,82	2,8851	49,89	4,9877
		Einnahmen	0,2746	7,74	2,2819	47,49	2,8851	49,89	4,9877
		400 ccm Harn	0,0621	1,75	0,6192	12,90	1,4801	25,59	3,4246
		92,0 g Kot	0,0374	1,05	0,5012	10,44	0,6404	11,07	0,8621
		Ausgaben	0,0995	2,80	1,1204	23,34	2,1205	36,66	4,2867

*) Der Harn der III. Periode ging leider durch eine Unachtsamkeit verloren, ehe noch die Phosphat- und Stickstoffanalysen angestellt waren. Die bezüglichen Bilanzzahlen sind geschätzt und ergaben in Hinsicht auf die Kotausscheidung und im Vergleiche zu den sonstigen Harn- und Kotwerten dieses Tieres den berechtigten Schluß, daß beide Bilanzen positiv sein müssen.

Literatur.

Best, Arch. f. Verdauungskrankh. **19**, 121. 1913. — Durlach, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **71**, 120. — Embden, Med. Klin. 1919, Nr. 30. — Engelmann, Arch. f. Anat. u. Physiol. 1871, S. 114. — Freund, H., Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **65**, 225; **74**, 311. — Gonnermann, Zeitschr. f. physiol. Chem. **99**, 255; diese Zeitschr. 88, 401; **94**, 163. — Kionka, Zeitschr. f. exp. Pathol. u. Therap. **17**, 98. — Laqueur, Zeitschr. f. phys. Chem. **93**, 161. - Loewi, O., Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **48**, 400. — Luithlen, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **68**, 209; **69**, 365. — Ludwig und Mautner, Österr. Bäderbuch 1914, S. 289. — Moll, Jahrb. f. Kinderheilk. **69**, 129 u. ff. — Moraczewski, Zeitschr. f. physiol. Chem. **23**, 487. — Noorden, Handb. d. Pathol. d. Stoffw. Bd. II, 2. Aufl., S. 458. — Osborne und Mendel, Journ. of biol. chem. **34**, 131. — Rost und Weitz, Arb. a. d. Reichs-Gesundheitsamte **51**, 494. — Stransky, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **78**, 122. — Weise, Arch. internat. de pharmaco-dyn. et de thérap. **21**, 77. — Wendt, Handb. d. Biochemie (Oppenheimer) Bd. IV. — Würtz, diese Zeitschr. **46**, 103.

Beitrag zur Praxis der Bleifällung.

Von

Hedwig Langecker.

(Aus dem Pharmakologisch-pharmakognostischen Institute der deutschen Universität in Prag.)

(Eingegangen am 30. Mai 1921.)

In Anbetracht der universellen Verwendung des Bleiacetates zu Reinigungs- und Fällungszwecken bei biologisch-chemischen Arbeiten ist es bemerkenswert, daß die verwendeten Lösungen vom basischen Bleiacetat gewöhnlich nicht definiert sind. Auch über die Bedingungen der Wirksamkeit von Bleifällungen ist in der Literatur keine Zusammenfassung niedergelegt.

Es erscheint daher nicht unberechtigt, die Erfahrungen unseres Laboratoriums in dieser Richtung mitzuteilen, wenn vielleicht auch die eine oder andere darunter bekannt sein sollte.

Es ist bekannt, daß sich ein großer Teil der mit Bleiacetat erzeugten Fällungen in Essigsäure löst. Davon kann man durch Verwendung von essigsauren Bleizuckerlösungen mit Vorteil Gebrauch machen[1]). Weniger allgemein beachtet dürfte es sein, daß auch durch Anwesenheit von Ammonacetat und -tartrat Bleiniederschläge gelöst werden. Die Tatsache, daß Bleisulfat in Ammonacetat und -tartrat löslich ist, wird in der analytischen Chemie zur Trennung von Blei- und Bariumsulfat verwendet[2]). Die Löslichkeit der Bleifällungen wird erst bei einem Salzüberschuß deutlich wahrnehmbar. Die Salzlösungen müssen zum Bleiacetat etwa im Verhältnis 15 : 1 stehen. In der präparativen Biochemie kann von dieser Eigenschaft der Bleiniederschläge auch mit Vorteil Gebrauch gemacht werden, wenn es sich darum handelt, bei Vermeidung von überschüssiger Säure fraktionierte Fällungen durchzuführen, z. B. eine Reinigung von Flüssigkeiten durch Blei vor-

1) Stransky, Arch. d. Pharmazie 258, H. 1, S. 67.

2) Treadwell, Analyt. Chem. 1, S. 184.

zunehmen, deren darzustellende Bestandteile ebenfalls mit Blei fällbar sind.

Die fällende Wirksamkeit von Bleiessiglösungen hängt naturgemäß von dem Verhältnis von PbO zu Bleiacetat ab und es ist daher nötig, über Bleiessiglösungen zu verfügen, die in dieser Richtung genau definiert sind.

Zunächst sei darauf hingewiesen, daß auch Schütteln mit Bleioxyd in der Kälte allein weitgehende Reinigung bzw. Klärung herbeiführt (z. B. in den Mazerationen von Digitalisblättern). Wenn diese Fällung durchführbar ist, stellt sie den Idealfall dar, da mit dem leicht wieder zu entfernenden in Lösung gegangenen Blei keine schwer oder gar nicht zu entfernenden Anionen in das Untersuchungsmaterial eingebracht wurden. Dieses Vorgehen ist jedoch nur möglich, wenn in dem Untersuchungsmaterial Stoffe saurer Natur zugegen sind, die intermediär gelöste Bleisalze bilden oder wenn die Bedingungen für eine Adsorption nach Art der Bolusadsorption gegeben sind.

Vom basischen Bleiacetat sind in der Literatur[1]) folgende Salze bekannt: Halb-basisch-Bleiacetat $2[(C_2H_3O_2)^2Pb] + PbO$, einfach-basisch-Bleiacetat, $Pb\langle{}^{O\cdot(C_2H_3O)}_{OH}$, zweifach-basisch Bleiacetat, $\begin{array}{l} Pb{-}OC_2H_3O \\ \quad >O \\ Pb\langle \\ \quad >O \\ Pb{-}OC_2H_3O \end{array}$, fünffach-basisch Bleiacetat, $\begin{array}{l} Pb{-}OH \\ \quad >O \\ Pb\langle \\ \quad >O \\ Pb{-}O\cdot C_2H_3O \end{array}$.
Das fünffach-basisch-Bleiacetat ist in kaltem Wasser unlöslich.

Was die Lösungen vom basischen Bleiacetat, sog. Bleiessig anlangt, so wird er nach dem Arzneibuch (öst. Pharmakop. VIII) folgendermaßen hergestellt: 30 T Bleiacetat, 10 T. Bleioxyd, 100 T. kaltes Wasser werden geschüttelt und filtriert. Der Berechnung nach handelt es sich um ein Gemisch von einfach- und halbbasischem Bleiacetat.

Da man sich für verschiedene Zwecke mit Vorteil verschiedener Verhältnisse zwischen Bleioxyd und Bleiacetat wird bedienen können, habe ich die Konzentration, die Alkalität und den Bleigehalt von Bleiessiglösungen festgestellt, die durch Vermischen bestimmter Mengen der beiden Stoffe im lufttrockenen Zustand und Behandeln des Gemenges in heißem Wasser hergestellt waren. Wird lufttrockenes Bleiacetat und Bleioxyd gemengt, so beobachtet

[1]) Schmidt, Pharmac. Chemie Bd. II, S. 471; Abegg, Anorg. Chemie Bd. 3, 2. Abt., S. 733.

Tabelle I.

Zahl	Molenverhältnis der Einwage	Bleiacetat: eingewog. Bleiacetat ad 100 ccm g	ber. Norm.	Pb als Acetat in 5 ccm g	gef. Norm.	Bleioxyd: eingewog. Bleioxyd ad 100 ccm g	ber. Norm.	Pb als PbO g	Verbrauch an ccm n-Essigsäure für 50 ccm	gef. Norm.
I	1 Mol PbA + 1/2 Mol PbO	18,96	1 n	0.5403	1,04 n	5,59	1/2 n	0,2530	24,5	0,49
Ia		56,88	3 n	1,6181	3,13 n	16,77	3/2 n	0,7449	72,2	1,44
II	1 Mol PbA + 1 Mol PbO	18,96	1 n	0.4822	0,93 n	11,17	n	0,4935	47,7	0,95
III	1 Mol PbA + 3/2 Mol PbO	18,96	1 n	0,4185	0,809	16,77	3/2 n	0,5759	55,6	1,11
IV	1 Mol PbA + 2 Mol PbO	18,96	1 n	0,2181	0,42 n	22,35	2 n	0,4730	46,4	0,93
V	1 Mol PbA + 3 Mol PbO	18,96	1 n	0,1593	0,308	33,52	3 n	0,4360	42,1	0,84
VI	1 Mol PbA + 5 Mol PbO	18,96	1 n	0,1669	0,32 n	55,85	5 n	0,4525	43,7	0,88

man einen Übergang des Farbentones von Orange über Hellgelb zu fast Weiß. Die Bildung der basischen Salze geschieht scheinbar im trockenen Zustand, wohl unter Vermittlung des Acetatkrystallwassers. Dabei gelangt man zu einer Grenze. Mehr als 3 Mol Bleioxyd auf 1 Mol Bleiacetat treten nicht in Reaktion.

Die Methoden waren folgende: Die Konzentration wurde durch Trocknen bei 105° bis zur Gewichtskonstanz bestimmt. Dabei war mit steigendem Bleioxydgehalt der Fehler infolge des sich bildenden Bleikarbonats immer größer. Die Alkalität wurde durch Titration mit n-Essigsäure gegen Methylrot bestimmt. Phenolphthalein ließ sich nicht verwenden, da bei geringem Indikatorzusatz kein Umschlag zu beobachten war und bei größerem Zusatz störende Niederschläge auftraten. Da es sich um die Titration eines Salzes einer schwachen Säure und einer schwachen Base handelt, ist die Titration mit Methylrot nicht fehlerfrei. Das Blei wurde als Bleisulfat bestimmt.

Tabelle I.

Blei				Salz					
$PbSO_4$ in 5 ccm g	Pb in 5 ccm g	Pb-Norm.	Basicitätsquotient	Trockensubstanz in 5 ccm g	Zusammensetzung	Pb-% ber.	Pb-% gef.	Alkalitätsäquivalent ber.	Alkalitätsäquivalent gef.
1,1610	0,7933	1,58	0,32	1,136	2 PbA + 1 PbO	71,1	69,8	Mol.-Gew. / 2	Mol.-Gew. / 1,88
3,4596	2,368	4,57	0,32	8,4209	Mol.-Gew.: 872,73	71,1	69,1	Mol.-Gew. / 2	Mol.-Gew. / 1,84
1,4287	0,9757	1,89	0,5	1,8445	$Pb-O\cdot C_2H_3O$ >O $Pb<O\cdot C_2H_3O$ Mol.-Gew.: 547,82	75,5	72,6	Mol.-Gew. / 2	Mol.-Gew. / 1,94
1,4561	0,9944	1,92	0,58	1,2[illegible]81	II + IV Mol.-Gew.: 1818,55	78,5	77,5	Mol.-Gew. / 6	Mol.-Gew. / 5,72
1,0207	0,6971	1,35	0,60	0,908	$Pb-O-C_2H_3O$ >O Pb< >O $Pb<O-C_2H_3O$ Mol.-Gew.: 770,73	80,5	76,8	Mol.-Gew. / 4	Mol.-Gew. / 8,98
0,8919	0,5953	1,15	0,73	0,7566	$Pb-O-C_2H_3O$ >O Pb< >O Mol.-Gew.: 993,64 Pb< >O $Pb<O-C_2H_3O$	83,8	78,7	Mol.-Gew. / 6	Mol.-Gew. / 5,54
0,9070	0,6194	1,2	0,73	0,7676	wie V.	83,8	80,7	Mol.-Gew. / 6	Mol.-Gew. / 5,66

Aus den beiden Tabellen ist zu ersehen, daß das halb-, ein-, einundeinhalb-, zwei- und dreibasische Bleiacetat in Lösung erhalten wurden. Das von Schmidt[1]) angegebene fünfbasische Blei-

Tabelle II.

Zahl	Einwage			Lösung			Salz nach Trockenrückstand			
	eingewog. Bleiacetat pro 1000 ccm in Äquival.	eingewog. Bleioxyd pro 1000 ccm in Äquival.	Summe der Äquival. in 1000 ccm	gefundene Bleiäquival. in 1000 ccm	gefundene Alkaliäquiv. in 1000 ccm	Basicitätsquotient	berechnete Pb.äquival. in 1000 ccm	gefundene Bleiäquival. in 1000 ccm	fehlende Äquival. in 1000 ccm	Löslichkeit in Äquival. in 1000 ccm
I	1	$^1/_2$	$^3/_2$	1,53	0,49	0,32	1,53	1,56	—	—
Ia	3	$^3/_2$	$^9/_2$	4,57	1,44	0,32	4.57	4,71	—	—
II	1	1	2	1,89	0,95	0,5	1,89	1,96	0,11	1,89
III	1	1,5	2,5	1,92	1,11	0,58	1,92	1,94	0,58	1,92
IV	1	2	3	1,35	0,93	0,69	1,35	1,41	1,65	1,35
V	1	3	4	1,15	0,84	0,73	1,15	1,22	2,85	1,15
VI	1	5	6	1,2	0,87	0,74	1,2	1,23	4,8	1,2

[1]) l. c.

acetat wurde nicht erhalten. Es blieb Bleioxyd ungelöst. Während bei der Herstellung des halb- und einbasischen Bleiacetats alles in Lösung ging, blieb bei allen übrigen ein Teil ungelöst. Die Löslichkeit der basischen Bleiacetate nimmt mit steigendem Gehalt an Bleioxyd ab. Die Basizität ist wegen der abnehmenden Löslichkeit durch Lösungen von mehrbasischem Bleiacetat nicht über 1 n zu steigern. Dagegen ist für die fällende Kraft das Verhältnis von Basizität zu Bleigehalt maßgebend. Dieses Verhältnis (Basizitätsquotient) nähert sich 1, so daß die am stärksten basischen Bleiessige wie gelöstes Bleioxyd wirksam sind.

Für die Praxis der Bleifällung ergibt sich, daß hoch konzentrierte Lösungen nur bei niedrigem Basizitätsquotienten herstellbar sind. Man wird aber trotzdem mit Bleiessigen von hohem Basizitätsquotienten arbeiten können, wenn man nicht klare Lösungen, sondern milchige Suspensionen verwendet, welche bei der Herstellung des Bleiessigs Nr. IV und V erhalten werden.

Die empfehlenswerteste Herstellung des Bleiessigs ist folgende: Verreiben äquivalenter Mengen von lufttrockenem Bleioxyd und -acetat bis zu einer fast weißen Masse, die hierauf mit wenig heißem Wasser zu einem gleichmäßigen Brei angemacht, hernach auf das entsprechende Volumen aufgefüllt und filtriert wird.

Auch von den festen Verbindungen, welche durch Verreiben in der Reibschale hergestellt werden, kann man in allen Fällen, in denen eine Flüssigkeitsvermehrung vermieden oder in alkoholischen Lösungen gearbeitet werden soll, in der gleichen Weise Gebrauch machen wie vom festen Bleiacetat. Denn es liegt hier tatsächlich fester Bleiessig vor, dessen Zusammensetzung, wie die Analysen der Lösungen zeigen, vollkommen den Mengen der gemischten Stoffen entspricht.

Die Wirksamkeit der Bleifällungen steigt von den sauren, über die salzhaltigen, neutralen bis zu den basischen Bleiacetatlösungen mit zunehmendem Basizitätsquotienten an. — Es dürfte daher stets gelingen, für fraktionierte Bleifällungen die gewünschten Bedingungen zu erreichen.

Ein Beitrag zur Giftwirkung der Schwermetallsalze auf das Pflanzenplasma.

III. Mitteilung.

Von

Hugo Kahho (Dorpat, Estland).

(Eingegangen am 13. Juni 1921.)

Bekanntlich besitzen die Schwermetallsalze, die gleiche Wertigkeit der Kationen vorausgesetzt, eine verschiedene Kolloidaktivität[1]) und demgemäß dem Plasma gegenüber eine ungleiche Giftigkeit[2]). Man hat hier einen Zusammenhang mit der Größe des elektrolytischen Lösungsdruckes der zweiwertigen Schwermetallkationen gefunden.

Um diesen Zusammenhang in bezug auf das Pflanzenplasma zu prüfen, habe ich im Anschluß zur vorhergehenden Mitteilung[3]) einige Versuche mit den Epidermisschnitten von Rotkohl und Tradescantia zebrina ausgeführt.

Bei den Rotkrautschnitten (Blattoberseite) für die meisten Salze eignete sich die Konzentration von 0,175 Mol, außer den heftigen Giften $HgCl_2$ und $CuCl_2$.

In der Lösung von Sublimat, wie es zu erwarten war, koagulierte das Plasma bei dieser Konzentration fast momentan. Nachdem die Schnitte sich 5 Min. in Kupferchloridlösung befanden und danach mit destilliertem Wasser ausgewaschen waren, plasmolysierten in Zuckerlösung ungefähr 68% der Gesamtfläche von 10 Schnitten, nach 10 Minuten 55%, nach 20 Min. 20% und nach 30 Min. waren alle Zellen tot.

Die mit den anderen Schwermetallsalzen erhaltenen Ergebnisse sind in der Tabelle I angeführt, wo iede Zahl das Prozent

---

[1]) Höber, Physikalische Chemie der Zelle usw., 1914, S. 284.

[2]) l. c. S. 485.

[3]) Diese Zeitschr. 118. 1921. Daselbst auch die Methodik.

Tabelle I.

Rotkohl. Konzentration der Lösungen 0,175 Mol. Temp. 17—19° C.

Die Zeit des Aufenthalts der Schnitte in Lös.	$ZnSO_4$	$Pb(C_2H_3O_2)_2$	$FeSO_4$	$CoCl_2$	$MnCl_2$	$CdCl_2$	$NiSO_4$	$CaCl_2$
Stunden	%	%	%	%	%	%	%	%
0,5	100	100	100	100	100	100	100	100
1	100	100	100	100	100	100	100	100
2	95	85	85	95	97	100	100	100
3	67	65	80	80	95	97	100	100
5	20	60	60	56	95	95	100	100
7	0	17	37	45	95	95	97	100

Bei den abgestorbenen Zellen tritt eine mehr oder weniger tiefe Blaufärbung ein.

der in Zuckerlösung plasmolysierten Gesamtfläche in je 10 Schnitten bedeutet[1]).

Die Daten der Tabelle I zeigen uns, daß in den Lösungen von Zn und Pb die noch plasmolysierbaren Zellen in den Schnitten verhältnismäßig schnell abnehmen und nach 5 Stunden in Zinksulfatlösung alle Zellen koaguliert, in Bleiazetat noch ein geringer Teil plasmolysierbaren Zellen vorhanden ist. Bei Mn, Cd und Ni dagegen bleiben die Zellen in weit überwiegender Zahl lebend, d. h. sie sind imstande, eine Deplasmolyse in Wasser und nachher eine neue Plasmolyse in Zuckerlösung durchzumachen.

Co und Fe nehmen eine Zwischenstellung zwischen den beiden erwähnten Gruppen ein.

Ordnet man die Kationen der untersuchten Schwermetallsalze, um $CaCl_2$ nach abnehmender Fähigkeit das Pflanzenplasma zu koagulieren, so erhält man die Reihenfolge

$$Hg > Cu > Zn > Pb > Fe,\ Co > Mn, Cd,\ Ni > Ca .$$

Ein Vergleich mit der Reihenfolge der elektrolytischen Lösungsdrucke zeigt uns Folgendes:

Reihenfolge der Lösungsdrucke.

Hg Cu Pb Ni Co Fe Cd Zn Mn Ca .

Abweichend verhalten sich hauptsächlich Zn und Ni, das erste durch ein abnorm große, das letztere durch zu kleine Aktivität.

Für das exceptionelle Verhalten des Zn haben wir ein Analogon in den Versuchen von Mathews und Lillie[2]). Höber

[1]) Die Zahlen in den Tabellen I und II haben nur einen qualitativen Wert; s. meine II. Mitteilung l. c.

[2]) Höber, l. c. S. 485, 532ff.

erklärt die ausschließlich hohe Toxizität des $ZnCl_2$ in den erwähnten Versuchen, durch die starke Hydrolyse seiner Lösungen (l. c). Für die allzu schwache Wirkung des $NiSo_4$ haben wir keine Erklärung. Der Unterschied zwischen den Wirkungen von Fe und Co einerseits, Mn und Cd anderseits liegt im Bereich des Versuchsfehlers.

Eine etwas bessere Übereinstimmung der Giftwirkung von Schwermetallsalzen mit der Größe des elektrolytischen Lösungsdruckes erhielt ich bei den Epidermisschnitten (Blattunterseite) von Tradescantia zebrina, mit viel schwächeren Lösungen.

Eine jede Zahl in der Tabelle II bedeutet das Prozent der in Zuckerlösung plasmolysierten Zellen in 10 Schnitten, nach der Behandlung mit Schwermetallsalzlösungen.

Tabelle II.

Tradescantia. Konzentration der Lösungen 0,025 Mol. Temp. 20° C.

Die Zeit des Aufenthalts der Schnitte in Lös.	$CuCl_2$	$CuSO_4$	$ZnSO_4$	$Pb(C_2H_3O_2)_2$	$NiSO_4$	$FeSO_4$	$CdCl_2$	$CoCl_2$	$MnCl_2$	$CaCl_2$
	Jede Zahl ist das Mittelprozent der plasmolysierten Zellen in 10 Schnitten									
20 Min.	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
30 „	75,0	70,0	75,7	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
1 Stde.	13,8	28,1	25,9	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
2 Stdn.	6,7	5,1	12,1	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
3 „	7,4	7,2	10,9	78,7	69,0	88,2	100,0	100,0	100,0	100,0
4 „	2,2	3,8	7,7	37,5	53,3	58,0	100,0	100,0	100,0	100,0
5 „	0	0	6,3	14,3	41,4	53,2	100,0	100,0	100,0	100,0
6 „	—	—	0	8,1	31,1	36,4	100,0	97,2	100,0	100,0
7 „	—	—	—	0	3,6	28,9	80,9	66,0	100,0	100,0
8 „	—	—	—	—	0	13,7	43,3	70,2	100,0	100,0
10 „	—	—	—	—	—	6,5	41,1	75,5	100,0	100,0
12 „	—	—	—	—	—	0	30,0	54,3	100,0	100,0
22 „	—	—	—	—	—	—	0	10,6	62,8	100,0
24 „	—	—	—	—	—	—	—	13,4	55,5	100,0

In der Lösung von $HgCl_2$ 0,005 Mol. waren die Tradescantiazellen nach 15 Min. bereits alle tot.

Nach abnehmender Giftigkeit geordnet, bilden die Kationen nach den Daten der Tabelle II diese Reihenfolge

$$Hg > Cu, Zn > Pb, Ni > Fe > Cd > Co > Mn > Ca .$$

Wie man sieht, hat das Ni hier seine richtige Stellung nach Pb eingenommen, während das Zn nach seiner Wirkung, wie vorher, dem Cu bzw. Pb nahe kommt. Eine weitere Ausnahme durch etwas zu schwache Aktivität bildet das Co.

Im allgemeinen ist die Übereinstimmung mit der Reihenfolge der Lösungsdrucke bei relativ schwächeren Konzentrationen der zu untersuchenden Lösungen besser, als bei höheren.

Das Anion scheint, so weit man das aus einem einzigen Beispiel $CuCl_2$ — $CuSO_4$ schließen kann, keine Rolle zu spielen[1]). Dabei müssen wir aber in Betracht ziehen, daß die Kupfersalze nach ihrer Toxizität auf der zweiten Stelle stehen, was wohl der großen Kolloidfällungskraft des Cu-Ions zuzuschreiben ist, welche die Wirkung des Anions völlig zudeckt. Es läßt sich aber nicht voraussagen, ob dasselbe bei den weniger wirksamen Salzen, wie Mn, Cd und anderen zutrifft. Es könnte ja möglich sein, daß in einigen Fällen auch die Beschaffenheit des Anions eine Rolle spielt, wie z. B. bei den organischen Anionen[2]). Auf diese Frage kommen wir noch bei einer anderen Gelegenheit zurück.

Zusammenfassend können wir sagen, daß die Giftwirkung der zweiwertigen Schwermetallkationen auf das Pflanzenplasma, bei relativ hoher Konzentration der Lösungen, in Hauptzügen mit der Größe der elektrolytischen Lösungsdrucke parallel geht. Daß aber hier noch „spezifische Einflüsse" mitwirken können[3]), darauf weist deutlich das abweichende Verhalten einiger Kationen hin.

---

1) Vgl. Kahlenberg und True, Zeitschr. f. physikal. Chem. 22, 475. 1897; Heald, ebenda S. 476.

2) Höber, l. c. S. 282.

3) Bechhold, Die Kolloide in Biologie und Medizin, 1912, S. 356.

Versuche über die Bedeutung der Reihenfolge in der Biologie. I.

Von

L. Karczag.

(Aus der III. Med. Klinik der kgl. ung. Universität Budapest.)

(Eingegangen am 15. Juni 1921.)

Bei den verschiedensten physikalisch-chemischen und biologischen Prozessen konnte ich konsequent auftretende Erscheinungen beobachten, welche auf gemeinsame Ursache, auf die Änderung der Reihenfolge der aufeinander wirkenden Komponenten des Systems zurückgeführt werden konnten. Durch die einfache Kommutation der beteiligten Glieder konnte die Dauer und Vollständigkeit der Reaktion, sowie der biologische Effekt des ablaufenden Prozesses auffallenderweise beeinflußt werden. Je nach der Systemzusammenstellung besitzen die untersuchten Prozesse ein Optimum und ein Pessimum, es konnte mit anderen Worten für diese ein bestimmtes Reihenfolgenoptimum und Reihenfolgenpessimum festgestellt werden.

Diese Erscheinungen machen sich bei drei und mehrgliedrigen Systemen geltend, bei denen nach aller Wahrscheinlichkeit, die eine der Komponenten das Sättigungsbestreben der andern mit verschiedener chemischer Affinität ausgleicht, oder wo im gleichen Sinne physikalisch-chemische Eigenschaften, wie elektive Löslichkeit, Adsorption usw. die bestimmende Rolle spielen.

Besteht z. B. ein System aus drei Komponenten A, B, C und stellt B das Bindeglied zwischen den gegeneinander indifferenten Glieder A und C dar, wobei A mit geringerer, C mit größerer chemischer Affinität an B geheftet wird, so ist es nicht gleichgültig, in welcher Reihenfolge das System zusammengestellt wird, d. h. ob $(A + B) + C$, oder $(B + C) + A$ miteinander, der Reihe nach zusammengebracht werden.

Mischt man nämlich das System in der Reihenfolge $B + C$ und komplettiert schließlich mit A, so ist bereits das große Sättigungsbestreben von B und C durch Belag der Haupt- und der Mehrzahl der Nebenvalenzen ausgeglichen, wodurch A und B lockerer gebunden wurden, als wenn man in umgekehrter Reihenfolge verfährt, d. h. zuerst A mit B mischt und schließlich C zufügt.

Ich werde im folgenden experimentelle Belege dafür liefern, daß in den weitesten Gebieten solche Prozesse ablaufen, welche durch Änderung der Reihenfolge, gemäß obiger Erklärung, günstig und ungünstig beeinflußt werden können und somit ein Optimum und ein Pessimum aufweisen. Auch werde ich aus der Literatur vereinzelt stehende Beobachtungen anführen, welche ebenfalls als Reihenfolgenphänomene aufzufassen sind, und welche mich in meiner Annahme, daß in allen diesen Prozessen eine neue naturwissenschaftliche Regel zur Geltung kommt, welche ich als „Reihenfolgenregel" bezeichnen möchte, unterstützen. Diese Regel würde besagen, daß gewisse Naturprozesse eine bestimmte Reihenfolge der aufeinanderwirkenden Komponenten besitzen, bei welcher sie am günstigsten und am ungünstigsten ablaufen und somit diese durch ein Reihenfolgenoptimum und Reihenfolgenpessimum charakterisiert sind. Die Bedingungen, welche die Regel bestimmen, sowie die Grenzen ihrer Gültigkeit müssen noch eingehend erforscht werden.

I.

Ich habe bereits in meinen Mitteilungen über Oxydationskatalyse die katalytische Oxydation vieler Farbstoffe, durch Metallsalze und H_2O_2 beschrieben und festgestellt, daß hierbei die Natur des zugesetzten Katalysators eine hervorragende Rolle spielt. So wurden eine große Anzahl von Farbstoffen, die Hauptrepräsentanten der chemisch, biologisch und histologisch wichtigen Farbstoffklassen durch Ferri-, Cu-. Co-, Mn-, Pt-, Ni-Salze in Gegenwart von H_2O_2 unter vollständiger Entfärbung oxydiert. Die Oxydation erforderte je nach der chemischen Natur des verwerteten Farbstoffes und Katalysators bei gleicher Konzentration verschiedene Zeitdauer. Das System bestand also aus drei Glieder: Farbstoff — Katalysator — Wasserstoffsuperoxyd. Vertauscht man beim Zusammenbringen der einzelnen Kompo-

nenten die Reihenfolge, indem man das System (Farbstoff + Wasserstoffsuperoxyd) + Katalysator bzw. (Wasserstoffsuperoxyd + Katalysator) + Farbstoff zusammenstellt, so ist bezüglich Oxydationsdauer des Vorgangs — welche mehrere Minuten in Anspruch nimmt — kein nennenswerter Unterschied zu beobachten.

Ganz anders gestalten sich aber die Verhältnisse, sobald man als Katalysator ein Ferrosalz verwendet. Bringt man nämlich die Farbstofflösung zuerst mit Wasserstoffsuperoxyd zusammen und komplettiert das System zum Schluß mit dem Ferrokatalysator, so geht die Entfärbung des Farbstoffes, ähnlich wie bei Verwendung von Ferri und anderer Katalysatoren, meist langsam und nach Minuten vor sich. Das gleiche geschieht, falls man zuerst Katalysator und Wasserstoffsuperoxyd untereinander mischt und schließlich mit der Farbstofflösung komplettiert. Bringt man aber den Farbstoff vorher mit der Ferrosalzlösung in Berührung und fügt nachher Wasserstoffsuperoxyd hinzu, so erfolgt die Entfärbung des Farbstoffes momentan.

Wir haben durch Kommutation einer Systemzusammenstellung von Farbstoff (als Substrat), Katalysator, Wasserstoffsuperoxyd zunächst also folgende Eigentümlichkeiten und Erscheinungen beobachten können:

1. Die Ferrooxydsalze besitzen gegenüber der Ferrosalze, sowie Mn-, Co-, Ni-, Pt-Salze als Katalysatoren, die Fähigkeit durch Reihenfolgenänderung der Systemzusammenstellung eine erhebliche Beschleunigung der Oxydationsgeschwindigkeit zu bewirken. Reaktionen, welche in einer Systemzusammenstellung (Farbstoff + H_2O_2) + Fe(So_4) oder (H_2O_4 + $FeSo_4$) + Farbstoff oft mehrere Minuten in Anspruch nehmen, laufen in einer Zusammenstellung von (Farbstoff + Fe SO_4) + H_2O_2 fast augenblicklich ab. Wir bezeichneten dieses charakteristische Phänomen als „Momentreaktion".

2. Die Momentreaktionen sind nicht etwa auf Sensibilierungsvorgänge zurückzuführen, sie sind eher als Wirkung des unveränderten Ferroions anzusehen, welche zum Vorschein kommt, falls Bedingungen vorhanden sind, welche seine Oxydation zu Ferroion in den Hintergrund drängen. Falls dieser Valenzwechsel des zweiwertigen Eisens zum mehrwertigen in der Reaktion den primären Vorgang darstellt, so dominiert

die Wirkung des Ferrioxydators, welche durch die Eigenschaft eine erheblich langsamere Oxydationsgeschwindigkeit zu bewirken charakterisiert ist. Das Wesen der Momentreaktion besteht also in einer günstigen Systemzusammenstellung, bei welcher die Bedingungen einer dominierenden Oxydation des Ferriions in den Hintergrund gedrängt werden, wodurch die Wirkung des zweiwertigen Eisens zum Vorschein kommen kann.

Auf dem Gebiete der Fermentchemie wurden vereinzelt Beobachtungen gemacht, welche nach unserer Auffassung ebenfalls unter der Reihenfolgenregel zu fallen scheinen. Man fand, daß die Peroxydase neben Katalase durch Bläuung der Guajactinktur nur nachgewiesen werden kann, falls (Peroxydase + Katalase) zuerst mit Guajactinktur zusammengebracht und erst dann mit Wasserstoffsuperoxyd versetzt wird, da bei nachträglichem Zusatz von Peroxydase zu einem Gemisch von (Guajactinktur + Wasserstoffsuperoxyd + Katalase) die Peroxydasewirkung ausbleibt. Auch diejenigen Fermentvorgänge, welche sich im allgemeinen auf die Einwirkung von hemmenden und aktivierenden Körper beziehen, scheinen dem Reihenfolgenregel unterworfen zu sein. Wohlgemuth äußert sich über den Zeitpunkt der Zugabe der Aktivatoren und Paralysatoren auf Grund zahlreicher Erfahrungen wie folgt: „Es ist ratsam, ihn zu dem Ferment zuzugeben, bevor man das Substrat zufügt, auf welches das Ferment einwirken soll. Denn verfährt man umgekehrt und gibt erst das Substrat zum Ferment, so kann bereits ein Teil des Fermentes vom Substrat mit Beschlag belegt sein, und ist dann in seiner ganzen Größe nicht mehr für die Beeinflussung durch die fremde Substanz zugänglich" (Wohlgemuth, Fermentmethoden).

Die von Bredig beobachteten „Vergiftungsphänomene" der Platin-Wasserstoffsuperoxydkatalyse wären auch hierher einzuordnen. Bredig beobachtete, daß Platin geradeso wie Fermente durch HCN eine vorübergehende Lähmung bzw. Vergiftung erfährt, indem die Zersetzung von H_2O_2 vorübergehend gehemmt wird und nur nach einer allmählichen Erholung wieder langsam in Gang gesetzt wird. Gibt man zuerst H_2O_2 zu Platin und dann HCN, so ist die Giftwirkung eine viel geringere, gibt man jedoch zuerst HCN hinzu und erst dann H_2O_2, so ist die Giftwirkung eine viel stärkere.

Andere Beobachtungen über Katalysatoren und Fermente, welche den Reihenfolgenphänomenen zuzurechnen wären, sind mir aus der Literatur nicht bekannt. Ich bin ihnen, wie erwähnt, gelegentlich meiner Versuche über Oxydationskatalysen begegnet, und diese veranlaßte mich auf verschiedenen Gebieten nach ähnlichen Erscheinungen zu suchen, um so mehr, da ich zwischen katalytischen, Ferment- und Immunitätsvorgängen noch nicht erforschte Beziehungen aufzufinden hoffte.

II.

Ich ging nun zu einer anderen Systemzusammenstellung auf biologischem Gebiete über und hoffte durch Kommutationen ebenfalls auf Erscheinungen zu stoßen, welche den oben beschriebenen analog zu setzen sind. Die Bakteriengärungen schienen nur zum Studium dieser Erscheinungen als besonders geeignet und wählte ich als System die Vergärung des Traubenzuckers (Bouillon) durch Colibacillen — einen der wichtigsten Lebenserscheinungen der Bakterien im allgemeinen — in Gegenwart von Toluol und Chloroform als Antiseptikum. Auf die technischen Einzelheiten möchte ich eingehend später zurückkommen.

Das System bestand also aus folgenden Komponenten: 1. Bacterium Coli; 2. Traubenzuckerbouillon; 3. Antisepticum, welche folgendermaßen kommutiert wurden:

(Coli + Traubenzuckerbouillon) + Antisepticum,
(Traubenzuckerbouillon + Antisepticum) + Coli.

Bevor die hierhergehörigen Versuche mitgeteilt werden, möchte ich dem Resultat meiner Untersuchungen vorausgreifen und erwähnen, daß es uns tatsächlich geglückt ist, durch den einfachen Reihenfolgenwechsel tiefgehende Veränderungen zu beobachten, welche in einer Herabsetzung der Inkubationsfrist, der Gärungsgeschwindigkeit und in einer Wachstumshemmung der Bakterien bestanden. Meine Versuche wurden zuerst mit Toluol als Antisepticum vorgenommen, und später mit Chloroform aus dem Grunde, weil ich dadurch einen Versuchsfehler auszuschalten hoffte Toluol ist spezifisch leichter als Traubenzuckerbouillon und breitet sich trotz guter Mischung und Überführung in den geschlossenen Schenkel des Gärungsröhrchens, in einer dünnen Schicht auf die Oberfläche des offenen Schenkels aus, wo die

Infektion mit der Bacillenemulsion erfolgt. Chloroform ist spezifisch schwerer wie Traubenzuckerbouillon und setzt sich im Gärungsröhrchen zum Boden, wodurch die Bacillen nach Infektion der vorbehandelten Nährsubstraten nicht mit einer Antisepticumschicht in Berührung kommen. Es war nun einerlei, ob Toluol oder Chloroform zu den Versuchen verwendet wurde, es ergab sich regelmäßig und eindeutig, daß die mit diesen Antisepticis vorher versetzten Proben, die Inkubation Gärung und Wachstumshemmung erkennen lassen, gegenüber den Proben, denen das Antisepticum nachträglich zugefügt wurde.

Über die Einzelheiten der angestellten Versuche soll folgendes berichtet werden.

Zur Verwendung kam als Substrat eine 1 proz. Traubenzuckerbouillon, welche sterilisiert und unter den üblichen aseptischen Kautelen in die Schröterschen kalibrierten Gärungsröhrchen gebracht wurde. Die zur Infektion benutzten Colibakterien kamen in 24stündigen Kulturen, welche auf Agarröhrchen gezüchtet wurden, zur Verwendung. Wir bereiteten uns aus einer Kultur mit 5—6 cm Kochsalzlösung eine gleichmäßige Suspension, welche nötigenfalls noch durch ein steriles Filter filtriert wurde. Toluol und Chloroform (chemisch rein) wurden mit Hilfe einer kalibrierten Glascapillare zugegeben. Sowohl für die gleichmäßige Verteilung der Bakterien, wie für die des antiseptischen Mittels, wurde durch fünfmaliges, vorsichtiges Hin- und Herneigen des Gärungsröhrchens mit Hilfe einer Luftblase gesorgt. Die Gärungsröhrchen kamen mit den entsprechenden Kontrollen in den Thermostaten, und die Besichtigung der Proben bzw. die Ablesung der entwickelten Gasmengen geschah dann in bestimmten Zeitabständen.

Bei diesen Versuchen haben die Herren Dr. Dániel und Dr. Hetényi gütigst mitgewirkt, wofür ich ihnen meinen wärmsten Dank aussprechen möchte.

Versuche mit Toluol.

In mehreren Versuchsreihen habe ich mich nach der gewöhnlichen Systemzusammenstellung (Traubenzuckerbouillon + Coli) + Toluol über den Einfluß der Toluolkonzentration auf die Gärung im allgemeinen orientiert, habe sodann Versuche über den Einfluß der Bakterienmenge angestellt und schließlich die Komponenten des Systems kommutiert und Versuche in gleicher Richtung wie oben vorgenommen.

Versuche mit dem System (Traubenzuckerbouillon + Coli) + Toluol.

Einfluß der Toluolkonzentration.

Diese Versuche ergeben eindeutig, daß die Gärungsgeschwindigkeit mit zunehmender Toluolkonzentration sinkt. Als Beispiel möchte ich folgende Versuchsreihe anführen:

Versuch II/15. 9^h 30′. Zu jeder Probe 0,2 ccm Bacillenemulsion.

Toluol in Probe 1 1 Tr. = 0,01 ccm
„ 2 3 „ = 0,03 „
„ 3 5 „ = 0,05 „
„ 4 10 „ = 0,10 „

	1	2	3	4	Kontrollen		
4^h	0,5	0,4	0,1	—	0,4	0,6	0,8
5^h	0,9	0,6	0,3	0,1	1,5	1,5	1,1
7^h	1,3	1,0	0,6	0,1	2,2	2,2	2,0
10^h	2,2	2,0	1,8	0,3	3,6	3,4	2,9

Die Gärung ist im allgemeinen um so intensiver, je mehr die zugesetzte Bakterienmenge beträgt, jedoch besteht nicht immer eine direkte Proportionalität, insbesondere bei Infektionen mit kleinen Mengen.

Versuche mit dem System (Traubenzuckerbouillon + Toluol) + Coli.

Folgender Versuch zeigt, gegenüber den Kontrollen, eine verlängerte Inkubationszeit, geringere Gasentwicklung. Die Unterschiede sind besonders in den ersten Stunden ausgeprägt, später bei fortschreitender Gärung verwischen sich die Differenzen. System (Bouillon + Toluol) + Coli wird mit „A“, System (Bouillon + Coli) + Toluol mit „T“, Kontrollen (ohne Toluolzusatz) mit „K“ bezeichnet.

Versuch II/10. 9^h 30′. Coli, eine Öse auf 3 ccm $^1/_{20}$ dazu, 2 Tropfen auf jede Probe. Toluol 1 Tropfen auf jede Probe.

	A		T		K	
	1	2	1	2	1	2
5^h	—	—	Spur	Spur	0,4	0,2
7^h	0,6	0,7	1,2	1,0	1,8	1,6
8^h	1,4	1,5	1,9	1,7	2,8	2,5
10^h	2,7	2,6	2,8	2,8	3,6	3,3

Folgender Versuch wurde mit einer weit größeren Bakterienmenge angestellt. Zu jeder Probe kam 1 cm Suspension einer Vollkultur und Tropfen Toluol.

Versuch I/15. 9^h 30′.

	A				T				K			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
4^h	0,6	0,6	0,6	0,8	0,7	0,7	0,7	0,7	1,2	1,3	1,6	1,6
6^h	1,5	1,4	1,4	1,8	1,8	1,7	1,6	1,7	2,5	2,9	3,1	3,1
I/16. 8^h	3,8	3,5	3,6	3,4	3,8	3,5	3,0	3,4	3,7	3,5	5,0	5,2

Dieser Versuch ergibt, daß die Hemmungen auch bei großen Bakterienmengen angedeutet sind, aber keinesfalls so scharf ausgeprägt, als bei Anwendung von geringeren Bakterienmengen.

Mit Zunahme der Toluolkonzentration bei konstant gehaltener Bakterienmenge ist die Hemmung ebenfalls stärker, wie dies aus folgendem Versuche hervorgeht.

Versuch I/10. 9h 30′. 0,1 cm Bacillensuspension zu jeder Probe. Zu den Serien

A_1 und T_1 2 Tropfen Toluol, zu den Serien
A_2 und T_2 3 Tropfen Toluol zugesetzt.

	A_1		T_1		A_2		T_2		K		
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	3
3h	0	0	0	0,1	0	0	0,1	0	0,2	0,2	0,2
4h	0	0,2	0,3	0,3	0	0	0,3	0,1	1,2	1,0	1,2
5h	0,2	0,6	1,0	1,0	0,1	0,3	0,6	0,6	1,8	1,5	1,9
6h	0,7	0,7	1,5	1,7	0,5	0,5	1,2	1,0	2,2	1,9	2,6
7h	1,0	1,4	1,8	2,4	0,6	0,8	1,7	1,6	2,9	2,4	3,0
8h	1,3	1,8	2,2	2,5	1,2	1,1	2,2	2,2	3,6	2,9	3,5
9h	1,8	2,2	2,8	3,0	1,5	1,6	2,5	2,9	4,7	3,7	4,3
10h	2,1	2,5	2,8	3,3	1,9	2,0	2,6	3,4	5,1	4,0	5,0

Versuche mit Chloroform.

Ähnlich wie die Versuche mit Toluol, wurden diejenige mit Chloroform angestellt. Chloroform hatte ebenfalls eine intensivere antiseptische Wirkung entfaltet — und zwar relativ stärker, als der Toluol — falls es zum Traubenzuckerbouillon vor der Impfung mit Colibacillen zugesetzt wurde.

Folgender Versuch verlief mit 5 Tropfen filtrierter Bacillenemulsion und 2 Tropfen (0,02 cm) Chloroform zu jeder Probe.

Versuch II/22. 9h 30′.

	A					CHL					K				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
1h 40′	—	Spur	—	—	—	0,2	0,2	0,3	0,2	0,2	0,6	0,7	0,7	0,7	0,4
3h	0,1	0,1	Spur	0,1	Spur	0,5	0,4	0,4	0,4	0,3	1,4	1,5	1,6	1,4	1,5
5h 30′	0,3	0,3	0,2	0,3	0,3	0,9	0,1	1,1	1,0	0,9	2,5	2,8	2,7	2,6	2,9
II/23. 8h	0,6	0,6	0,4	0,6	0,8	1,6	2.0	1,6	2,5	2,2	3,4	3,4	3,4	3,4	4,6

und zeigte eindeutig, daß die Inkubation, die Gärungsintensität und die Wachstumgeschwindigkeit der Bakterien (welche durch Stärke der Trübung und Sedimentierung der Bakterien in den Gärungsröhrchen zu beurteilen war) eine starke Verspätung und Hemmung zeigt.

Ich glaube, daß die Verstärkung der antiseptischen Wirkung durch die vorherige Zugabe des Antisepticums mit einer größeren Bindung der Bakterienmenge zusammenhängt; dies würde die Proportionalität zwischen Verstärkung der Hemmungsphänomene durch Erhöhung der Toluolkonzentration und Schwächung

derselben durch die Erhöhung der Bakterienmenge beweisen. Auch dürfte hierbei das primäre Lösungsvermögen von Toluol und Chloroform auf die Bakterienlipoide eine Rolle spielen, welche bei vorheriger Zugabe viel stärker zur Geltung kommt, als wenn die Lipoide mit den Nährsubstraten des Bouillons bereits in Verbindung getreten sind. Es wäre auch daran zu denken, daß die Antiseptica proportionell ihrer Konzentration die Nutriceptoren der Bakterien viel stärker schädigen oder besetzen, als wenn diese bereits mit den Nährsubstraten des Nährbouillons abgesättigt sind.

Durch das Prinzip des Reihenfolgenoptimums haben wir somit Beziehungen zwischen der Reihenfolge der Zugabe und der Desinfektionskraft von Antiseptica auffinden können, welche auf dem Gebiete der Hygiene und Bakteriologie einen fruchtbaren Boden für künftige Forschungen geben dürfte. Die Entwicklungshemmung von Mikroorganismen durch ein Antisepticum müßte also nicht nur bei nachträglicher Zugabe des Mittels bestimmt werden, sondern auch in umgekehrter Reihenfolge, um dadurch die richtige Desinfektionsbreite des Mittels kennenzulernen.

Versuche über die Bedeutung der Reihenfolge in der Biologie. II.

Von

L. Karczag und **K. Hajós.**

(Aus der III. Med. Klinik der Kgl. Ung. Universität Budapest.)

(Eingegangen am 15. Jnni 1921.)

In weiterer experimenteller Prüfung der von Karczag aufgestellten Reihenfolgenregel haben wir folgende Systeme einer Prüfung unterworfen.

1. Versuche über die antitryptische Kraft des Blutserums mit dem System (Trypsin + Casein + Blutserum).

2. Versuche mit dem hämolytischen System (rote Blutkörperchen + Komplement + Hämolysin).

3. Tierversuche über die bakteriolytische Wirkung des Immunserums auf Paratyphus B Bacillen im Pfeifferschen Versuch: (mit Immunserum + Paratyphus B + Meerschweinchen) als System.

1. Versuche über die antitryptische Kraft des Blutserums.

Das Blutserum wurde in einer Verdünnung $^1/_{50}$, die Caseinlösung in $2^0/_{00}$, Trypsin in $1^0/_{00}$ Lösung verwendet. Es kamen von dem Blutserum

Reihen	Systeme	Trypsinmenge							
		0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8
I	1. Trypsin 2. Serum 3. Casein	—	—	—	—	—	—	±	+
II	1. Serum 2. Trypsin 3. Casein	—	—	—	—	—	—	±	±
III	1. Casein 2. Trypsin 3. Serum	—	—	—	—	±	+	+	+
IV	1. Casein 2. Serum 3. Trypsin	—	—	—	—	—	±	±	+

\+ bedeutet vollständige Verdauung.

± bedeutet Übergang zwischen Verdauung und Hemmung.

— bedeutet vollständige Hemmung.

0,5 cm, von der Caseinlösung 2 ccm zu jeder Probe und Trypsin in aufsteigenden Mengen von 0,1 ccm bis 0,8 ccm. — Die Proben kamen auf $^1/_2$ Stunde in Thermostaten, wonach die Ablesung des Resultates erfolgte. Die Systeme wurden in vier Reihen gleichzeitig eingestellt. Im folgenden ist ein Versuch wiedergegeben, aus dem zu ersehen ist, daß die Änderung der Reihenfolge eine Änderung der antitryptischen Kraft hervorrief und somit die Reihenfolgenregel auch auf dieses System ihre Gültigkeit besitzt. Die schwächste Hemmung zeigte die vierte Reihe, die stärkste die Reihen I und II.

2. Versuche mit dem hämolytischen System.

Im folgenden ist ein Versuch mit dem hämolytischen System wiedergegeben, aus dem die bereits bekannte Tatsache klar hervorgeht, daß die nachträgliche Zugabe von Komplement zu einem Gemisch von Hämolysin und Erythrocyten eine schnellere Hämolyse bewirkt, die vorherige Zugabe des Komplementes zu den roten Blutkörperchen, und die nachträgliche Zugabe von Hämolysin eine auffallende zeitliche Verzögerung des Eintretens der Hämolyse bewirkt.

Die Reihen der mitgeteilten Versuchen wurden gleichzeitig eingestellt.

Reihe I. 1. 0,5 ccm Hämolysinverdünnung
2. 0,5 ccm einer 5proz. Blutkörperchenaufschwemmung — 1 Stunde Thermostat.
3. 1 ccm phys. NaCl-Lösung

nachher 0,5 ccm Komplement (als Komplement wurde ein 1 : 10 verdünntes Meerschweinchenserum benutzt).

Reihe II. 1. 0,5 ccm Komplement
2. 0,5 ccm Blutkörperchen — 1 Stunde Thermostat.
3. 1 ccm phys. NaCl-Lösung

nachher 0,5 ccm der Hämolysinverdünnung.

Reihe III. 1. 0,5 ccm Komplement
2. 0,5 ccm Hämolysinverdünnung — 1 Stunde Thermostat.
3. 1 ccm phys. NaCl-Lösung

nachher 0,5 ccm Blutkörperchenaufschwemmung.

Das komplettierte System wurde noch eine Zeitlang im Thermostat belassen und nach verschiedenen Zeiten abgelesen. Solch ein Versuch wird in der folgenden Zusammenstellung wiedergegeben:

Versuch 1. Abgelesen nach 25 Minuten:

Reihe	Verdünnung des Hämolysins								
	$^1/_{200}$	$^1/_{400}$	$^1/_{800}$	$^1/_{1600}$	$^1/_{3200}$	$^1/_{6400}$	$^1/_{12800}$	$^1/_{25600}$	$^1/_{51200}$
I	+	+	+	+	—	—	—	—	—
II	+	+	—	—	—	—	—	—	—
III	+	+	—	—	—	—	—	—	—

Derselbe Versuch nach 45 Minuten abgelesen:

Reihe	Verdünnung des Hämolysins								
	1/200	1/400	1/800	1/1600	1/3200	1/6400	1/12800	1/25600	1/51200
I	+	+	+	+	+	+	–	–	–
II	+	+	–	–	–	–	–	–	–
III	+	+	+	+	+	+	–	–	–

+ bedeutet komplette Hämolyse. — bedeutet keine Hämolyse.

Wir folgerten nun auf Grund der großen Analogie der beschriebenen Erscheinungen mit denjenigen der Katalysatoren, der Fermente und Bakteriengärungen, daß sich auch hier „Momentreaktionen" einstellen müssen, daß sich somit die sog. Sensibilisierung sofort nach dem Mischen der einzelnen Komponenten erfolgen muß und daß infolgedessen ein längeres vorheriges Stehenlassen der roten Blutkörperchen mit Hämolysin in Thermostaten nicht erforderlich ist. — Wir haben also das System schnell nacheinander zusammengestellt und die Proben erst dann ohne vorangehende Sensibilisierung der Erythrocyten in Thermostaten gebracht. — Es zeigte sich in der Tat, daß die Wirkung des im voraus zugesetzten Hämolysins momentan erfolgte — wodurch die große Analogie zwischen Hämolyse und Fermentvorgängen eine noch weitere auffallende Stütze erfuhr. — Die Erscheinungen am hämolytischen System fallen auch unter die Reihenfolgenregel, deren Erkenntnis sich auch auf diesem Gebiete als fruchtbar erweisen muß, da dadurch der Begriff der Sensibilisierung eine ganz andere Bedeutung wie bisher gewinnt. — Nach unserer Auffassung ist nämlich die Sensibilisierung in diesem Falle nichts anderes, wie das Reaktionsoptimum eines Systems, dessen Glieder in optimaler Reihenfolge zusammengestellt wurden.

Als ein weiteres Beispiel für die Prüfung der Reihenfolgenregel auf serologischem Gebiete, möchten wir den Versuch von Kiss anführen, den wir aus der kürzlich erschienenen Monographie dieses Forschers entnehmen. (Kiss, Alexin und Antialexin. Verlag Fischer, 1921. S. 101.)

Kiss beweist in seinem Experiment, daß das Antialexin seine antihämolytische Wirkung nur dann entfaltet, falls das hämolytische System in einer bestimmten Reihenfolge der aufeinanderwirkenden Komponenten zusammengestellt wird.

Folgende Systemzusammenstellung (Versuch 1) zeigt eine starke antihämolytische Wirkung:

100 Antialexineinheiten + 100 Einheiten frischen Serums + (unmittelbar hinterher) 1,0 ccm sensibilisierte rote Blutkörperchenemulsion

In folgender Systemzusammenstellung (Versuch 2) bleibt die antihämolytische Wirkung aus und die Hämolyse stellt sich ein:

100 Antialexineinheiten + 1,0 ccm sensibilisierte rote Blutkörperchen + (nach 1—2 Minuten) 100 Einheit frischen Serums.

Die erwähnten Versuche auf serologischem Gebiete beweisen also ebenfalls, daß gewisse Veränderungen eines Systems auf die Änderung der Reihenfolge der aufeinander wirkenden Glieder zurückgeführt werden müssen, und daß die ablaufenden Prozesse ein bestimmtes Reihenfolgenoptimum und Reihenfolgenpessimum besitzen. Das Reihenfolgenoptimum im hämolytischen System macht den Begriff der Sensibilisierung und das Reihenfolgenpessimum den Begriff der Hemmung überflüssig und erklären uns einfach die beiden Vorgänge, welche auf eine gemeinsame Grundursache: auf die Änderung der Reihenfolge zurückgeführt werden müssen.

Um auch auf komplizierten Gebieten die Gültigkeit der Reihenfolgenregel zu erforschen, haben wir im folgenden die Bakteriolyse von Paratyphus B durch das entsprechenden Immunserum an Meerschweinchen, mittels des Pfeifferschen Versuches, geprüft, indem wir Reihenfolgenänderungen der Komponenten vorgenommen haben. Der Pfeiffersche Versuch besteht im wesentlichen darin, daß man ein bakteriologisches Immunserum mit den lebenden Bakterien in die Peritonealhöhle von Meerschweinchen bringt und sodann mit Hilfe von Capillarpipetten zeitweise Peritonealexsudat entnimmt und dann den bakteriolytischen Vorgang unter dem Mikroskop verfolgt.

Auch diese Tierversuche konnten mit Erfolg abgeschlossen werden, da sie uns darüber belehrten, daß auch in Tierversuchen durch Reihenfolgenänderung eine für das Tier günstige und ungünstige Systemzusammenstellung erzielt werden kann, wobei das Reihenfolgenoptimum für das Tier das Überwinden der Infektion, das Reihenfolgenpessimum dagegen schwere Erkrankung und Tod bedeutete. Im folgenden sollen die

3. Versuche über die bakteriolytische Wirkung von Immunserum auf Paratyphus B-Bazillen-Pfeifferscher Versuch

mitgeteilt werden.

Wir bereiten uns aus einer 24stündlichen Pararatyphus B-Kultur mit 1 ccm Nährbouillon eine Emulsion und machen uns vom Immunserum mit

Bouillon eine Verdünnung in einem Verhältnis von 1 : 100. Wir nehmen dann zu den Tierversuchen vier gleich große Meerschweinchen vom gleichen Körpergewicht und stellen den Versuch unter Beibehaltung folgender Reihenfolge an:

Versuchstier Nr. 1 erhielt auf einmal intraperitoneal (1 Öse Bacillenemulsion + 1 ccm Immunserum).

Versuchstier Nr. 2 erhielt intraperitoneal zuerst 1 Öse Bacillenemulsion und nach 5 Minuten 1 ccm $^1/_{100}$ Immunserum.

Versuchstier Nr. 3 erhielt intraperitoneal zuerst 1 cm $^1/_{100}$ Immunserum und nach 5 Minuten 1 Öse Bacillenemulsion.

Versuchstier Nr. 4 erhielt 1 Öse Bacillenemulsion in 1 ccm Bouillon.

Der Ausgang des Versuches ist aus folgender Zusammenstellung ersichtlich:

Versuch angestellt am 5. III. vorm. 10 Uhr:

Versuchstier	Beobachtung	Endresultat
Nr. 1	Nach 10 Minuten beginnt die Bakteriolyse. Nach 20 Minuten 1—2 bewegliche Bacillen, reichliche Granulabildung; Peritonealflüssigkeit nach 1 Stunde steril.	Am 7. III. lebt.
Nr. 2	Nach 20 Minuten gut bewegliche und nur einige gelähmte Bacillen, nach 1 Stunde unzählbare Bacillen mit guter Bewegung.	Am 6. III. tot vorgefunden.
Nr. 3	Nach 30 Minuten beginnende Bakteriolyse. Nach 1 Stunde 40 Minuten einige Granula sichtbar.	Am 7. III. lebt.
Nr. 4	Ständig ungeheure Mengen von gut beweglichen Bacillen.	Am 5. III. nachmittag 6 Uhr gestorben.

Dieser Versuch wurde wiederholt, jedoch mit dem Unterschiede, daß hierbei die zeitliche Differenz zwischen Verabfolgen des Immunserums und der Bacillenemulsion nicht 5 Minuten, sondern 5 Sekunden betrug. Unsere Resultate haben wir auch durch diesen Versuch bestätigt gefunden, indem sich die Versuchstiere 2 und 3 ganz im selben Sinne, wie im ersten Versuche, verhielten.

Die Reihenfolgenregel besitzt nach den angeführten Beispielen nicht nur auf dem komplizierten Gebiete der Infektion und Immunität ihre Gültigkeit. In den Versuchen von J. Loeb über die künstliche Parthenogenese sind Beobachtungen gemacht worden, welche den Einfluß der Reihenfolge auf wichtige biologische Prozesse, wie Entwicklung und Wachstum der Eier, erkennen lassen. J. Loeb untersuchte die Toleranz befruchteter und unbefruchteter Eier gegen Sauerstoffmangel. Befruchtete Eier entwickeln sich im Sauerstoffvakuum, oder durch Hinderung der Oxydation durch Cyankalium nicht, sie entwickeln

sich aber, wenn man sie hinterher in lufthaltiges, normales Seewasser zurückbringt. Nach 24stündigem Sauerstoffmangel ist zwar an den Eiern noch eine Furchung zu erzielen, sie entwickeln sich aber über das Blastulastadium nicht hinaus. Brachte man aber die Eier desselben Weibchens unbefruchtet 24 Stunden lang in sauerstofffreies Seewasser und setzte man nach ihrer Übertragung in normales Seewasser Samen zu, so entwickelten sich diese Eier zu vollkommen normalen Pluteen. J. Loeb untersuchte ferner die Einwirkung von zwei verschiedenen Agenzien: Fettsäure und hypertonischem Seewasser auf die Befruchtung der Eier von Strongylocentrotus purpuratus. Behandelt man die Eier nur mit einem der beiden Agenzien, so entwickelt sich kein Ei. Behandelt man die Eier zuerst mit einer einbasischen Fettsäure, oder irgendeiner anderen Säure nur mit einer Carboxylgruppe und setzt dieselben nachher in hypertonisches Seewasser, so entwickeln sich bei richtiger Expositionsdauer so gut, wie alle Eier zu Larven. Stellt man den Versuch in umgekehrter Ordnung an und behandelt zuerst mit hypertonischem Seewasser und erst dann mit der Fettsäure, so muß man bei dieser Reihenfolge die Eier viel länger, nämlich $1^1/_2$ bis 2 Stunden mit dem hypertonischen Meerwasser in Berührung lassen, um ihre Entwicklung zu ermöglichen.

Weitere Versuche von J. Loeb mit Alkalien ergaben einen völligen Parallelismus mit den Versuchen mit Fettsäuren, da das Alkali, wie in den obigen Versuchen die Fettsäure, wirkte. Auch hier zeigte sich die Reihenfolge der Eingriffe von maßgebendem Einfluß auf die Entwicklung und das Wachstum der Eier, als ein klassischer Beweis für die Gültigkeit der Reihenfolgenregel.

Die Versuche werden in verschiedenster Richtung fortgesetzt. Da jedoch zum Ausbau der gestellten Probleme die Arbeit eines einzelnen nicht ausreicht, so würde ihm die Mitbetätigung von andrer Seite, sowie die Mitteilung bereits gemachter Erfahrungen, welche die Reihenfolgenregel betreffen, eine Freude gewähren.

Bouillon eine Verdünnung in einem Verhältnis von 1 : 100. Wir nehmen dann zu den Tierversuchen vier gleich große Meerschweinchen vom gleichen Körpergewicht und stellen den Versuch unter Beibehaltung folgender Reihenfolge an:

Versuchstier Nr. 1 erhielt auf einmal intraperitoneal (1 Öse Bacillenemulsion + 1 ccm Immunserum).

Versuchstier Nr. 2 erhielt intraperitoneal zuerst 1 Öse Bacillenemulsion und nach 5 Minuten 1 ccm $^1/_{100}$ Immunserum.

Versuchstier Nr. 3 erhielt intraperitoneal zuerst 1 cm $^1/_{100}$ Immunserum und nach 5 Minuten 1 Öse Bacillenemulsion.

Versuchstier Nr. 4 erhielt 1 Öse Bacillenemulsion in 1 ccm Bouillon.

Der Ausgang des Versuches ist aus folgender Zusammenstellung ersichtlich:

Versuch angestellt am 5. III. vorm. 10 Uhr:

Versuchstier	Beobachtung	Endresultat
Nr. 1	Nach 10 Minuten beginnt die Bakteriolyse. Nach 20 Minuten 1—2 bewegliche Bacillen, reichliche Granulabildung; Peritonealflüssigkeit nach 1 Stunde steril.	Am 7. III. lebt.
Nr. 2	Nach 20 Minuten gut bewegliche und nur einige gelähmte Bacillen, nach 1 Stunde unzählbare Bacillen mit guter Bewegung.	Am 6. III. tot vorgefunden.
Nr. 3	Nach 30 Minuten beginnende Bakteriolyse. Nach 1 Stunde 40 Minuten einige Granula sichtbar.	Am 7. III. lebt.
Nr. 4	Ständig ungeheure Mengen von gut beweglichen Bacillen.	Am 5. III. nachmittag 6 Uhr gestorben.

Dieser Versuch wurde wiederholt, jedoch mit dem Unterschiede, daß hierbei die zeitliche Differenz zwischen Verabfolgen des Immunserums und der Bacillenemulsion nicht 5 Minuten, sondern 5 Sekunden betrug. Unsere Resultate haben wir auch durch diesen Versuch bestätigt gefunden, indem sich die Versuchstiere 2 und 3 ganz im selben Sinne, wie im ersten Versuche, verhielten.

Die Reihenfolgenregel besitzt nach den angeführten Beispielen nicht nur auf dem komplizierten Gebiete der Infektion und Immunität ihre Gültigkeit. In den Versuchen von J. Loeb über die künstliche Parthenogenese sind Beobachtungen gemacht worden, welche den Einfluß der Reihenfolge auf wichtige biologische Prozesse, wie Entwicklung und Wachstum der Eier, erkennen lassen. J. Loeb untersuchte die Toleranz befruchteter und unbefruchteter Eier gegen Sauerstoffmangel. Befruchtete Eier entwickeln sich im Sauerstoffvakuum, oder durch Hinderung der Oxydation durch Cyankalium nicht, sie entwickeln

sich aber, wenn man sie hinterher in lufthaltiges, normales Seewasser zurückbringt. Nach 24stündigem Sauerstoffmangel ist zwar an den Eiern noch eine Furchung zu erzielen, sie entwickeln sich aber über das Blastulastadium nicht hinaus. Brachte man aber die Eier desselben Weibchens unbefruchtet 24 Stunden lang in sauerstofffreies Seewasser und setzte man nach ihrer Übertragung in normales Seewasser Samen zu, so entwickelten sich diese Eier zu vollkommen normalen Pluteen. J. Loeb untersuchte ferner die Einwirkung von zwei verschiedenen Agenzien: Fettsäure und hypertonischem Seewasser auf die Befruchtung der Eier von Strongylocentrotus purpuratus. Behandelt man die Eier nur mit einem der beiden Agenzien, so entwickelt sich kein Ei. Behandelt man die Eier zuerst mit einer einbasischen Fettsäure, oder irgendeiner anderen Säure nur mit einer Carboxylgruppe und setzt dieselben nachher in hypertonisches Seewasser, so entwickeln sich bei richtiger Expositionsdauer so gut, wie alle Eier zu Larven. Stellt man den Versuch in umgekehrter Ordnung an und behandelt zuerst mit hypertonischem Seewasser und erst dann mit der Fettsäure, so muß man bei dieser Reihenfolge die Eier viel länger, nämlich $1^1/_2$ bis 2 Stunden mit dem hypertonischen Meerwasser in Berührung lassen, um ihre Entwicklung zu ermöglichen.

Weitere Versuche von J. Loeb mit Alkalien ergaben einen völligen Parallelismus mit den Versuchen mit Fettsäuren, da das Alkali, wie in den obigen Versuchen die Fettsäure, wirkte. Auch hier zeigte sich die Reihenfolge der Eingriffe von maßgebendem Einfluß auf die Entwicklung und das Wachstum der Eier, als ein klassischer Beweis für die Gültigkeit der Reihenfolgenregel.

Die Versuche werden in verschiedenster Richtung fortgesetzt. Da jedoch zum Ausbau der gestellten Probleme die Arbeit eines einzelnen nicht ausreicht, so würde ihm die Mitbetätigung von andrer Seite, sowie die Mitteilung bereits gemachter Erfahrungen, welche die Reihenfolgenregel betreffen, eine Freude gewähren.

Colorimetrische Untersuchungen über das Tryptophan. VI.

Über den Tryptophangehalt einiger Nahrungsmittel und den Tryptophanbedarf des erwachsenen Menschen.

Von

Otto Fürth und **Fritz Lieben.**

(Ausgeführt mit Unterstützung der Bernhard Wetzler-Stiftung für Volksernährung.)

(Aus der chemischen Abteilung des Wiener Physiologischen Univ.-Inst.)

(Eingegangen am 15. Juni 1921.)

Zu den wichtigsten Problemen, welche durch Ausarbeitung einer brauchbaren Methode der colorimetrischen Tryptophanbestimmung[1]) einer Beantwortung zugänglich geworden sind, gehört zweifellos der Tryptophanbedarf sowohl des wachsenden als auch derjenige des ausgewachsenen Menschen und die Frage, in welchem Umfange und in welcher Art dieser Bedarf durch verschiedene Ernährungsformen gedeckt wird.

Jener Fragenkomplex, welcher die Rolle des Tryptophans im kindlichen Organismus betrifft, ist von Toshio Ide unter der Leitung Edmund Nobels an der Klinik für Kinderkrankheiten der Wiener Universität (Prof. Pirquet) einer eingehenden Bearbeitung unterzogen und sind die Resultate dieser Untersuchungen kürzlich veröffentlicht worden[2]).

Unsere Untersuchungen beschränken sich daher auf die Frage des Tryptophanbedarfes des erwachsenen Menschen und der Deckung dieses Bedarfes bei verschiedenen Ernährungstypen.

Als Vorarbeit für die Beantwortung der Frage, wieviel Tryptophan der Erwachsene bei normaler, reichlicher und knapper

---

[1]) Vgl. O. Fürth und E. Nobel, diese Zeitschr. **109**, 103. 1920. — O. Fürth und F. Lieben, ebenda **109**, 125, 153. 1920.

[2]) Zeitschr. f. experim. Med. **15**, 1921.

Ernährung tatsächlich aufnimmt und mit welchem Tryptophanminimum er noch eben, ohne Schaden zu leiden, sein Auskommen zu bestreiten vermag, war eine möglichst exakte Feststellung des Tryptophangehaltes einer größeren Anzahl der wichtigsten Nährstoffe unerläßlich. Der Ermittlung desselben bildet den Gegenstand des ersten Teiles dieser Untersuchung; die so ermittelten Daten finden im zweiten Teile ihre Nutzanwendung und wird eine Beantwortung der uns in erster Linie interessierenden physiologischen Fragen unter Verwertung einer sorgfältigen Auswahl aus dem in der Literatur des Stoffwechsels vorliegenden umfangreichen Materiale versucht.

A. Tryptophangehalt einiger Nahrungsmittel.

Mit Rücksicht auf die geradezu unbegrenzte Mannigfaltigkeit von Nahrungsmitteln mußten wir uns selbstverständlich auf eine sorgfältige Auswahl einiger für unsere speziellen Zwecke unentbehrlicher Nahrungsmitteltypen beschränken. So haben wir uns denn mit Stichproben folgender Arten von tryptophan haltigen Nahrungsmitteln befaßt:

a) Mehle: Weizen, Roggen, Gerste, Hafer, Mais;
b) Leguminosen: Bohnen, Linsen, Erbsen, Sojabohnen;
c) Kartoffeln;
d) Reis;
e) Nüsse: Walnüsse, Haselnüsse;
f) Gemüse: Sauerkraut, Kohlrüben, weiße Rüben, Spinat;
g) Kuhmilch;
h) Fleisch: Rind-, Kalb-, Schweine-, Hammelfleisch, Schinken, Wurst, Corned beef;
i) Fische: Schellfisch, Hering gesalzen und getrocknet;
k) Hühnereier;
l) Käse: Verschiedene Sorten.

a) Mehle.

1. Weizenmehl. Bei der Tryptophanbestimmung in Mehlproben waren nicht unerhebliche Schwierigkeiten zu überwinden. Eine einfache direkte Bestimmung nach Lösung in konzentrierter Alkalilauge, etwa in der Art, wie sie bei reinen Proteinen und auch bei tierischen Organen zur Anwendung gelangen konnte, erwies sich hier als gänzlich untunlich, da der bei Alkalieinwirkung

aus der Stärke entstehende zähe Kleister einer colorimetrischen Bestimmung unüberwindliche Hindernisse bereitet. Man muß unbedingt die Proteine als solche extrahieren und für sich untersuchen. Dabei genügt es nun wiederum keineswegs etwa, das Mehl mit einer verdünnten Salzlösung zu extrahieren und das so erhaltene Eiweiß zu untersuchen; denn dabei bleibt das in den Cerealiensamen in reichlichen Mengen vorhandene eigenartige alkohollösliche Eiweiß („Prolamin") ungelöst zurück und dieses kann nur durch Alkoholextraktion gewonnen werden.

Nach mannigfachen Versuchen erwies sich uns nachstehender Vorgang als zweckentsprechend:

100 g Weizenmehl (niederösterreichischer Herkunft) wurden mit dem mehrfachen Volumen einer 10proz. Kochsalzlösung mehrere Stunden lang geschüttelt, sodann filtriert und das Filtrat mit Essigsäure gefällt. Der Niederschlag wurde abfiltriert, gewaschen, sodann durch kurzdauerndes Erwärmen mit starker Natronlauge gelöst. Die so erhaltene klare Lösung enthielt (nach Voisenet-Bestimmung) 0,049% Tryptophan. Nach Kjeldahl fand sich in 5 ccm $\left.\begin{matrix}0{,}0126\\0{,}0126\end{matrix}\right\}$ g N in 100 ccm sonach 0,252 g N, was 0,252 · 6,25 = 1,58% Roheiweiß entspricht. Das in verdünnter Salzlösung lösliche Weizenmehleiweiß (Globulinfraktion!) enthält sonach (x : 0,049 = 100 : 1,58) 3,1% Tryptophan.

Weiterhin wurden 100 g desselben Mehles mit 400 ccm Alkohol 70% einige Stunden lang unter Rückflußkühlung ausgekocht, abfiltriert, neuerlich mit einer neuen Alkoholportion ausgekocht und noch ein drittesmal der gleichen Behandlung unterworfen. Die vereinigten alkoholischen Extrakte wurden durch Zusatz eines mehrfachen Volumens Wasser gefällt. Der nach längerem Stehen geballte Niederschlag wurde abfiltriert, durch kürzdauerndes Erwärmen mit starker Lauge in Lösung gebracht. Die Lösung enthielt (nach Voisenet) 0,076% Tryptophan. Kjeldahl in 5 ccm ergab $\left.\begin{matrix}0{,}0299\\0{,}0305\end{matrix}\right\}$ 0,0303 g N, daher in 100 ccm 0,606 g N, entsprechend 3,79% Eiweiß mit einem Tryptophangehalte von 2,0%. Das alkohollösliche Prolamin des Weizensamens, das Gliadin, enthält sonach 2% Tryptophan.

Nun enthält Weizenmehl nach den Königschen Tabellen[1]) im Mittel 10,68% Rohprotein (N-Substanz). Vom Rohprotein des Weizenmehles entfallen auf Reinprotein nach J. Cosack[2]) 74,9, 79,0, nach S. Weinwurm[3]) 71,4, 72,6 73,7, im Mittel 74,3%. Von den 10,68% Rohprotein würden sonach 7,93% auf Reinprotein entfallen.

Diese 7,93% mußten nun, um eine richtige Berechnung zu ermöglichen, auf die Globulin- und Gliadinfraktion aufgeteilt werden. Zu diesem Zwecke wurde in einer weiteren Mehlprobe der Gliadingehalt quantitativ bestimmt.

[1]) König, Chemie der Nahrungsmittel. 5. Aufl.
[2]) König, 1, 627.
[3]) König, 1, 657.

10 g Weizenmehl wurden durch dreimaliges Auskochen mit 70 proz. Alkohol soweit erschöpft, daß der Alkohol keine durch Wasser fällbare Substanz mehr aufnahm. Die vereinigten Filtrate wurden mit viel Wasser unter starkem Ansäuern mit Salzsäure gefällt. Der nach Stehen in der Kälte abgesetzte Niederschlag wurde auf einem Filter gesammelt, mit wenig Wasser ausgewaschen und samt dem Filter kjeldahlisiert. Es fand sich 0,0669 g N, was $0{,}669 \cdot 6{,}25 = 4{,}18\%$ Gliadin entspricht. (Es steht dies in sehr guter Übereinstimmung mit einer Angabe von Clifford Richardson[1]), derzufolge Weizen im Mittel 4,20 in 80 proz. Alkohol lösliches Eiweiß enthalten soll.)

Die Eiweißverteilung in unserer Weizenprobe wäre demnach

Gliadin	4,18% Reinprotein
Globulinfraktion	3,75% Reinprotein
	7,93% Reinprotein.

Der Tryptophangehalt berechnet sich dementsprechend:

4,18% Gliadin mit 2% Tryptophan	= 0,084% Trypt.
3,75% Globulin mit 3,1% Tryptophan	= 0,116% Trypt.
	0,200% Trypt.

Unser Weizenmehl enthielt sonach 0,20% Tryptophan.

2. Roggenmehl. Verarbeitung wie beim Weizenmehl.

Nach Königs Tabellen enthält deutscher Roggen im Mittel 11,19% Rohprotein. Nach M. Fischer[2]) entfallen im deutschen Roggen auf 100 Teile Rohprotein im Mittel 86,4 Teile Reinprotein, somit enthält der Roggen 9,67% Reinprotein.

Die Prolaminbestimmung durch Alkoholextraktion ergab 1,62%. Somit verteilt sich dieses Reinprotein:

Prolaminfraktion.	1,62%
Globulinfraktion	8,05%
	9,67%

Die Tryptophanbestimmung für das Roggenprolamin ergab nur 0,7% (vermutlich ist das eigentliche Prolamin, geradeso wie das Zein, tryptophanfrei und ist der gerinige Tryptophangehalt auf die Beimengung anderer Proteine zurückzuführen).

In der durch Kochsalzlösung extrahierten Globulinfraktion fand sich 2,7% Tryptophan.

Die Rechnung stellt sich also folgendermaßen:

100 g Roggenmehl enthalten:

In der Prolaminfraktion	1,62 g	Eiweiß m. 0,7% i. e.	0,01 g Trypt.
In der Globulinfraktion	8,05 g	Eiweiß m. 2,7% i. e.	0,22 g Trypt.
	9,67 g	Summe	0,23 g Trypt.

Unsere Roggenmehlprobe hat sonach 0,23% Tryptophan enthalten.

[1]) König, 1, 422.

[2]) König, 1, 470.

3. Gerstenmehl. Verarbeitung wie oben!

Geschälte Gerste enthält (nach den Tabellen von Schall und Heisler 2. Aufl., S. 18, 1910) im Mittel 7,6% Rohprotein. Vom Rohprotein-N sind nach F. Farsky[1]) 88,5% Reinprotein-N. Den 7,6% Rohprotein entsprechen sonach 6,7% Reinprotein.

Das Gerstenmehl enthält reichliche Mengen alkohollöslichen Prolamins (Hordein). In unserer Probe fanden sich davon 4,44%. Die Tryptophanbestimmung im Hordein ergab 1,8%. Die durch Kochsalz extrahierbare Globulinfraktion erwies sich wesentlich tryptophanreicher (3,4%).

Die Rechnung stellt sich also folgendermaßen:

Dieses Gerstenmehl enthält:

Prolaminfraktion (Hordein)	4,4%
Globulinfraktion	2,3%
	6,7%

4,4% Hordein	mit 1,8% Tryptophan	= 0,07	g Tryptophan
2,3% Globulin	mit 3,4% Tryptophan	= 0,078	g Tryptophan
	Summe	0,158	g Tryptophan

Das Gerstenmehl enthielt sonach 0,16% Tryptophan.

4. Hafermehl. Hafermehl enthält nach A. Stutzer[2])
9,12 } 9,87 } 9,5% Reinprotein.

Die Prolaminbestimmung ergab 1,7% eines Prolamins, das Tryptophan nur in Spuren enthielt, wohingegen sich im salzlöslichen Hafermehleiweiß 2,9% Tryptophan fanden.

Das Hafermehl enthielt sonach:

Prolaminfraktion.	1,7%
Globulinfraktion	7,8%
	9,5%.

100 g Hafermehl enthalten also:

in der Globulinfraktion	7,8 g Eiweiß mit	0,23	g Tryptophan
in der Prolaminfraktion	1,7 g Eiweiß mit	—	g Tryptophan
	Summe	0,23	g Tryptophan.

Das Hafermehl enthielt sonach 0,23% Tryptophan.

5. Maismehl. Die Eiweißverteilung im Maismehl stellt sich:

Mittel aus 20 Analysen von P. Collier[3]) (Dept. Agric. Washington)

Alkohollösliches Eiweiß	5,57%
In Alkohol unlösliches Eiweiß. . .	5,12%
	10,69%.

Das im Maismehl enthaltene Prolamin, das Zein ist bekanntlich anderen Eiweißkörpern gegenüber durch das Fehlen des Tryptophankom-

[1]) König, 1, 518.
[2]) König, 1, 642.
[3]) König, 1, 551, 553, 556.

plexes ausgezeichnet. In der durch 10 proz. Kochsalzlösung extrahierbaren Eiweißfraktion fand sich dagegen reichlich Tryptophan.

Eine Probe ergab	3,3%	Tryptophan
Eine andere Probe (Maisgries)	3,7%	Tryptophan
Mittel	3,5%	Tryptophan.

Die Rechnung für den Tryptophangehalt des Mehles stellt sich also folgendermaßen:

In 100 g Maismehl 5,27 g Zein mit . . . . 0 g Trypt.
5,12 g alkoholunlösliches Eiweiß mit 0,179 g Trypt.
0,179 g Trypt.

Das Maismehl wäre demnach mit 0,18% Tryptophan zu bewerten.

Berechnet man nun, auf Grund der angegebenen Daten den mittleren Tryptophangehalt der gesamten Reinproteine für die einzelnen Mehlsorten, so ergibt sich für

Weizenmehl	2,52%
Roggenmehl	2,37%
Gerstenmehl	2,34%
Hafermehl	2,42%
Maismehl	1,67%.

Das Roggen-, Gersten- und Hafermehl erweist sich also hinsichtlich des mittleren Tryptophangehaltes seiner Gesamtproteine als dem Weizenmehl durchaus gleichwertig, während der Tryptophangehalt des Maismehles nur etwa $^2/_3$ der vorgenannten Stoffe entspricht. Jedenfalls ist es aber eine durchaus irrige, in der Vitamin- und Pellagraliteratur aber immer wieder auftauchende Meinung, das Maismehl sei eine tryptophanfreie oder doch zum mindesten ganz besonders tryptophanarme Nahrung.

b) Leguminosen.

1. Bohnen. α) 5 g gepulverter Bohnen wurden durch Erwärmen mit 25 ccm 30 proz. Natronlauge in Lösung gebracht. Die direkte Voisenet-Bestimmung in der durch Glaswolle filtrierten Lösung ergab 0,088% Tryptophan. Die 35 ccm der Lösung (5 g Bohnen entsprechend) enthielten sonach 0,022 g Tryptophan, ergo 100 g Bohnen 0,44 g Tryptophan.

Der Rohproteingehalt von Bohnen ist mit 25% zu bewerten. Das Rohprotein der Bohnen enthält nach W. A. Gwallig[1]) 93,80, 95,17, 94,46, 95,48 } 94,7% Reinprotein. Die Bohnen enthalten sonach 23,7% Reinprotein mit einem Tryptophangehalte von 1,86%.

[1]) König, I, 583.

β) Ein weiterer analoger direkter Versuch ergab für 100 g Bohnen 0,41% Tryptophan.

γ) 100 g feingepulverter Bohnen wurden mehrere Stunden lang mit 0,2 proz. Natronlauge geschüttelt; die opalescente Flüssigkeit filtriert, mit Essigsäure gefällt und der abgetrennte Niederschlag mit verdünnter Natronlauge in der Kälte in Lösung gebracht. Die Lösung enthielt (nach colorimetrischer Bestimmung) 0,044% Tryptophan, nach Kjeldahl in 5 ccm $\left.\begin{matrix}0{,}0136\\0{,}0133\end{matrix}\right\}$ Mittel 0,0135 g N, i. e. 0,27% N, was $0{,}27 \cdot 6{,}25 = 1{,}69\%$ Rohprotein entspricht. Das Bohneneiweiß würde dementsprechend 2,60% Tryptophan enthalten und, wenn Bohnen (s. o.) 35,7% Reinprotein enthalten, wäre ihr Tryptophangehalt mit 0,61% zu bewerten.

δ) Ein weiterer Versuch analoger Art ergab, daß im Bohneneiweiß 2,16%, in den Bohnen als solchen 0,51% Tryptophan enthalten war.

Es hat sich sonach ergeben:

für das Bohneneiweiß $\left.\begin{matrix}1{,}86\\2{,}60\\2{,}16\end{matrix}\right\}$ 2,21% Tryptophan und für die Bohnen als solche $\left.\begin{matrix}0{,}44\\0{,}41\\0{,}61\\0{,}51\end{matrix}\right\}$ 0,50% Tryptophan.

In analoger Weise durchgeführte Versuche haben ergeben für:

2. Linsen:	Tryptophangehalt der Proteine	$\left.\begin{matrix}2{,}42\\2{,}30\end{matrix}\right\}$ 2,36%
	„ „ Samen als solcher	$\left.\begin{matrix}0{,}60\\0{,}56\end{matrix}\right\}$ 0,58%
3. Erbsen:	„ „ Proteine	1,79%
	„ „ Samen als solcher	0,34%
4. Sojabohnen:	„ „ Proteine	2,20%
	„ „ Samen als solcher	0,55%.

c) Kartoffeln.

α) $^1/_2$ kg Kipfelkartoffeln wurden fein zerhackt und mit der Fleischsaftpresse ausgepreßt. Der Preßsaft wurde unter Zusatz von einigen Tropfen Essigsäure durch Aufkochen auskoaguliert, das abfiltrierte Koagulum mit Alkohol ausgekocht, wieder auf das Filter gebracht, mit heißem Wasser ausgewaschen, sodann durch kurzdauerndes Erwärmen mit 30 proz. Natronlauge in Lösung gebracht. Die Lösung enthielt (colorimetrisch) 0,028% Tryptophan und (Kjeldahl) 0,134% N, sonach $0{,}134 \cdot 6{,}25 = 0{,}838\%$ Protein mit 3,3% Tryptophan.

Da nun Kartoffel (nach den Tabellen von Schall und Heisler) im Mittel 1,5% Eiweiß enthalten, wäre der Tryptophangehalt derselben mit 0,050% zu bewerten.

β) Kipfelkartoffeln wurden haschiert und im Faustschen Abdampfapparat bei einer 40° nicht übersteigenden Temperatur im Luftstrome getrocknet. Für 100 g trockener Kartoffeln (entsprechend 417 g feuchter Kartoffeln) ergab sich ein Gesamt-N-Gehalt von 1,50 g N, entsprechend 9,38% Rohprotein.

Der Nichtprotein-N wurde nach Barnstein[1]) durch Fällung mit Alkohol und Kupfersulfat und Kjeldahlisieren des Filtrates mit 0,46% ermittelt. Es ergibt sich sonach 1,50 — 0,46 = 1,04% Reinprotein-N mit 6,50% Reinprotein. Dieses (s. o.) mit 3,3% Tryptophan in Rechnung gebracht, ergibt für die getrockneten Kartoffeln einen Gehalt von 0,205%, für die frischen Kartoffeln einen Tryptophangehalt von 0,051%.

Es fand sich sonach:

im Kartoffeleiweiß 3,3%, in den frischen Kartoffeln $\left.\begin{matrix}0{,}050\\0{,}051\end{matrix}\right\}$ 0,050% Tryptophan.

d) Reis.

1/4 kg Reis wurde fein gepulvert mit 1 Liter NaOH 0,2% 4 Stunden geschüttelt, dekantiert, die trübe Flüssigkeit mit Essigsäure gefällt, der reichliche Niederschlag filtriert, mit essigsäurehaltigem Wasser gewaschen, bei niederer Temperatur im Luftstrome getrocknet, fein gepulvert. Von diesem Präparate[2]) („Oryzenin") wurden 5 g abgewogen und in 50 ccm NaOH 30% unter Erwärmen gelöst.

Die Lösung enthielt (colorim.) 0,061% Trypt. und $\left.\begin{matrix}0{,}356\\0{,}348\end{matrix}\right\}$ 0,352 g N mithin 0,352 · 6,25 = 2,20% Eiweiß. Sonach enthält das Reiseiweiß 2,77% Tryptophan.

Nach O. Kellner[3]) enthält Reis $\left.\begin{matrix}1{,}40\\1{,}44\\1{,}50\\1{,}51\end{matrix}\right\}$ 1,46% N, demnach enthält Reis etwa 1,46 · 6,25 = 9,13% Protein und 0,25% Tryptophan.

e) Nüsse.

Tryptophanbestimmung nach Extraktion durch Schütteln mit NaCl 10%, Fällung mit Essigsäure, Lösung des Niederschlages in Lauge.

Es ergaben sich

1. für Walnüsse: Tryptophangehalt der Proteine 1,7%, der Samen als solcher 0,22%,
2. für Haselnüsse: Tryptophangehalt der Proteine 2,5%, der Samen als solcher 0,40%.

f) Gemüse.

1. Sauerkraut. Frischer Krautkopf wurde zerkleinert, mit Presse ausgepreßt, Preßsaft durch Zusatz von Essigsäure gefällt, Niederschlag abfiltriert und in Lauge gelöst.

---

1) König, 3, 2. Teil, S. 818. 1914.

2) Vgl. O. Rosenheim und S. Kajiura, Journ. of Physiol. 36; Proc. Physiol. Soc. 1908, Nr. 6. — U. Suzuki, K. Yoshimura u. S. Fuji, Journ. Coll. Agricult. Tokjo 1, 77; Chem Zentralbl. 1909, 2, 633.

3) König, 1, 557.

Es ergab sich:

Tryptophangehalt der Proteine = 4,2%, des Sauerkrautes = 0,038%.

2. Kohlrüben. Zwei große Kohlrüben fein gehackt, im Luftstrom bei niederer Temperatur getrocknet, gepulvert, mit NaCl 10% anhaltend geschüttelt, filtriert, klares Filtrat durch Aufkochen und Zusatz von Essigsäure auskoaguliert, Koagulum abfiltriert, in NaCl 30% in der Wärme gelöst. Es ergab sich so (Voisenet, Kjeldahl), daß Kohlrübeneiweiß 3,3% Tryptophan enthält.

Nun enthalten Kohlrüben[1]) im Mittel 1,39% N-Substanz in der feuchten Substanz. Nach E. Massute[2]) ist in trockenen Kohlrüben die Relation $\frac{2{,}11\%\ \text{Reinprotein-N}}{2{,}85\%\ \text{Rohprotein-N}}$ gefunden worden. Demnach entsprechend 1,39% Rohprotein 1,03% Reinprotein in der feuchten Substanz.

Frische Kohlrüben enthalten demnach etwa 0,033% Tryptophan.

3. Weiße Rüben. Ähnlicher Vorgang wie beim Sauerkraut.

Tryptophangehalt der Proteine wurde mit 2,0%, derjenige der Rüben mit 0,014% bewertet.

4. Spinat. $^1/_2$ kg frischen Spinates wurde zerkleinert, ausgepreßt, der tiefgrüne Preßsaft mit Essigsäure in der Kälte gefällt, der Niederschlag abfiltriert, mit essigsäurehaltigem Wasser gewaschen; das Filtrat enthält kein koagulables Eiweiß mehr. Der grüngefärbte Niederschlag wurde nunmehr unter Rückflußkühlung 1 Stunde lang mit $^1/_4$ l Alkohol ausgekocht und filtriert: tiefgrünes Filtrat; fast farbloser Niederschlag, mit Alkohol ausgewaschen; sodann in starker Natronlauge durch kurzdauerndes Erwärmen gelöst. Der Alkohol vertrieben, spärliche ungelöste Flocken wurden abfiltriert. In üblicher Weise ergab sich, daß Spinateiweiß 4,3% Tryptophan enthielt.

Nach C. Böhmer und A. Stift[3]) enthält Spinat 4,16% N-Substanz, aber nur 3,18% Protein (Schall und Heisler: 2,7% Eiweiß). Dementsprechend wäre der Tryptophangehalt des Spinates mit 0,138% zu bewerten.

g) Kuhmilch.

Aus den Analysen von O. Fürth und E. Nobel[4]) wurde unter Ausscheidung der höchsten gefundenen Zahlen[5]) als Durchschnittswert angesetzt:

für d. mittleren Tryptophangehalt d. Milchproteine 2,5%,
für d. mittleren Tryptophangehalt der Kuhmilch 0,065%.

[1]) König, 1, 770.
[2]) König, 1, 779.
[3]) König, 1, 790.
[4]) Diese Zeitschr. 109, 117. 1920.
[5]) Vgl. diesbezügl. l. c. S. 118.

h) Fleisch und i) Fische.

Bei derartigen Nahrungsmitteln konnte die einfache direkte Bestimmung, wie sie von uns seinerzeit für Proteine und tierische Organe angegeben worden ist, i. e. Lösen in starker Alkalilauge und colorimetrische Auswertung der Lösung, stets unschwer zur Durchführung gelangen.

Unsere Resultate finden sich in der Tabelle am Schlusse dieses Kapitels zusammengestellt.

k) Hühnereier.

Die direkte Bestimmung ergab:

	Mittl. Tryptophangehalt d. Proteine		Tryptophangehalt d. Nahrungsmittels	
Eierklar	1,8 2,3	2,0%	0,22 0,23	0,23%
Eidotter	2,0 2,1	2,1%	0,30 0,33	0,32%

Ein Hühnerei, das etwa zu

12% aus Schale
55% aus Eierklar
33% aus Eidotter
100%

besteht[1]) und im Mittel 51 g wiegt, enthält 0,23% (das einzelne Ei im Mittel 0,115 g) Tryptophan.

l) Käse.

Die direkte Bestimmung durch Lösen in Alkali erwies sich für Käse wegen seines hohen Fettgehaltes im allgemeinen als untunlich.

Für verschiedene Käsesorten wurde dagegen unter Verwertung der im Königschen Handbuche enthaltenen Angaben über ihren Gehalt an Reinprotein-N und Nichteiweiß-N und unter der Annahme, daß das Käseeiweiß weitaus seiner Hauptmenge aus Casein bestehe, die Berechnung durchgeführt.

Z. B. im Emmenthaler Käse haben E. Schulze und Barbieri[2]) gefunden: Eiweißstoffe 18,6 / 21,7 / 21,8 / 24,9 / 23,8 } 22,2%, Eiweißzersetzungsprodukte 6,2%.

Einem Reinproteingehalte von 22,2% (als Casein gerechnet) entspricht ein Tryptophangehalt von 0,44.

---

[1]) Vgl. die Tabelle von Schall und Heisler, II. Aufl., S. 16. 1910.
[2]) König, I, 318.

		Es ergab sich so auf Grund der Analysenzahlen ein Gehalt an Casein und seinen Spaltungsprodukten	Tryptophan
Stutzer[1])	im Gervaiskäse	8,3%	0,17%
„	„ Schweizerkäse	24,2 „	0,48 „
Muzzo u. M.[2])	„ Gruyèrekäse	22,1 „	0,44 „
Duclaux[3])	„ Holländerkäse	34,1 „	0,68 „
G. Sartori[4])	„ Schafkäse	28,2 „	0,56 „
J. Klein[5])	„ Limburger Backsteinkäse	25,7 „	0,51 „

Es erübrigt nunmehr, unsere Resultate übersichtlich zusammenzustellen, wobei ausdrücklich hervorgehoben werden soll, daß es sich um nichts anderes handelt und handeln kann, als um Orientierungszahlen, die auf Grund einiger Stichproben zum Zwecke der Beantwortung der uns speziell interessierenden physiologischen Fragen ermittelt worden sind. Daß z. B. der Tryptophangehalt der einzelnen Arten von Getreidesamen sicherlich erheblichen Schwankungen unterworfen ist, unterliegt keinem Zweifel. Die Auswertung und Deutung derselben an der Hand eines umfangreichen Analysenmateriales muß jedoch den Nahrungsmittel- und Agrikulturchemikern überlassen bleiben.

Wir lassen eine tabellarische Zusammenstellung unserer Orientierungszahlen folgen:

Tabelle I.

Nahrungsmittel	Tryptophangehalt der darin enthaltenen Proteine %	Tryptophangehalt des Nahrungsmittels als solchem %
Weizenmehl	2,52	0,20
Roggenmehl	2,37	0,23
Gerstenmehl	2,34	0,16
Hafermehl	2,42	0,23
Maismehl	1,67	0,18
Bohnen	2,21	0,50
Linsen	2,36	0,58
Erbsen	1,79	0,34
Sojabohnen	2,20	0,55
Kartoffeln	3,30	0,05
Reis	2,77	0,25

[1]) König, 1, 321.
[2]) König, 1, 331.
[3]) König, 1, 332.
[4]) König, 1, 343.
[5]) König, 1, 345.

Tabelle I (Fortsetzung).

Nahrungsmittel	Tryptophangehalt der darin enthaltenen Proteine %	Tryptophangehalt des Nahrungsmittels als solchem %
Wallnüsse	1,70	0,22
Haselnüsse	2,50	0,40
Sauerkraut	4,20	0,038
Kohlrüben	3,80	0,033
Weiße Rüben	2,00	0,014
Spinat	4,30	0,138
Kuhmilch	2,50	0,065
Rindfleisch	1,77	0,42
Kalbfleisch	1,93	0,39
Hammelfleisch	1,66	0,44
Schweinefleisch (fettarm)	1,93	0,39
Schinken	1,87	0,43
Corned Beef	—	0,50
Wurst (fettreich)	—	0,20
Schellfisch	1,55	0,24
Hering gesalzen	1,80	0,32
Hering geräuchert	2,50	0,45
Eierklar	2,00	0,23
Eidotter	2,10	0,32
Das Hühnerei als Ganzes	2,05	0,23
Emmenthaler Käse	2,00	0,44
Gervais Käse	2,00	0,17
Gruyère Käse	2,00	0,44
Holländer Käse	2,00	0,68
Schafkäse	2,00	0,56
Limburger Backsteinkäse	2,00	0,51

B. Tryptophanbedarf des erwachsenen Menschen.

Die Ermittlung der im ersten Abschnitte dieser Arbeit mitgeteilten Daten betreffend den Tryptophangehalt der wichtigsten Nährstoffe hat uns nun in die Lage versetzt, an der Hand einer Auswahl von Beispielen aus der Stoffwechselliteratur den Tryptophanbedarf des erwachsenen Menschen auf rechnerischem Wege mit ziemlicher Schärfe festzustellen.

Unsere Berechnungen betreffen 33 Beispiele, von denen viele wiederum sich nicht auf Einzelindividuen beziehen, vielmehr eine große Zahl von Personen mit einem Durchschnitte erfassen. Die Art unserer Berechnungen ist aus den Tabellen ohne weiteres ersichtlich, derart, daß wir es uns an dieser Stelle ersparen können, darüber viel Worte zu verlieren. Unsere Auswahl geeigneten

Materiales aus der Stoffwechselliteratur hat vor allem durch den Umstand eine sehr erhebliche Einschränkung erfahren, daß wir nur solche Versuche benützen konnten, wo nicht etwa summarisch die Menge an aufgenommenem Eiweiß, Fett und Kohlenhydrat angeführt, vielmehr die Nahrung vollkommen detailliert war Da es uns hier um den physiologischen Tryptophanbedarf zu tun war, haben wir alle Versuche von pathologischem Gepräge ausgeschaltet. So insbesondere alle Hungerversuche; jedoch auch bei den Versuchen mit eiweißarmer Ernährung alle diejenigen, bei denen das N-Gleichgewicht nicht erreicht worden ist, der Organismus sonach von seinem eigenem Bestande gezehrt hat.

Unsere Beispiele lassen sich in 4 Gruppen einteilen: a) normale, ausgiebige Ernährung, b) atypische Ernährungsformen, c) rein vegetarische Ernährung, d) Eiweißminimumversuche ohne Störung des N-Gleichgewichtes.

a) Normale ausgiebige Ernährung.

Wir haben, um unsere Berechnungen auf eine möglichst breite Grundlage zu stellen, möglichst heterogene Typen einer normalen, reichlichen Ernährung herangezogen. So figuriert unter unseren Beispielen:

Nr. 1. Die Kost finnländischer Arbeiter (nach Tigerstedt) mit einer Tagesaufnahme von 116 g Rohprotein und mehr als 3000 Calorien.

Nr. 2. Die überreichliche Kost im Studentenklub in Helsingfors (nach Sundström) mit 150 g Eiweiß und fast 4000 Calorien.

Nr. 3. Die Ernährung eines Kopenhagener Arztes (nach Jürgensen) mit 126 g Eiweiß.

Nr. 5. Die sehr reichliche Kriegsverpflegung (1870) einrückender preußischer Soldaten (nach C. Voit) mit 157 g Eiweiß.

Nr. 6. Die kaum minder ausgiebige Garnisonsverpflegung des bayerischen Heeres (nach C. Voit) mit 126 g Eiweiß.

Nr. 7. Die sehr reichliche, wenn auch monotone Kost russischer Landarbeiter (nach Erismann) mit 132 g Reinprotein.

Nr. 8. Die Kost von Bergarbeitern aus dem Rheinlande (nach Steinheil) mit 133 g Rohprotein.

Nr. 12. Jedoch auch die gemischte japanische Kost (Selbstversuch von Kumagawa) muß als reichlich bezeichnet werden, trotzdem sie mit 86 g Reinprotein auskommt; denn dabei ist zu beachten, daß es sich um ein Individuum von nur 48 kg Körpergewicht gehandelt hat.

Auch die scheinbar frugale Ernährung der Neapolitaner (Nr. 9—11) gehört wohl mit Rücksicht auf das geringe Normalgewicht der Versuchspersonen hierher.

In allen diesen Fällen hat die auf 1 kg Körpergewicht umgerechnete Tryptophanmenge sich zwischen 0,032 und 0,046 g bewegt. Scheidet man die in bezug auf ihren Ernährungszustand nicht über jeden Zweifel erhabenen Fälle Nr. 4 (Vorsteherin eines Kopenhagener Mädcheninstituts) und Nr. 10 (neapolitanischer Schuhflicker) aus, so engen sich diese Grenzen auf den immerhin engen Bereich von 0,036—0,046 g Tryptophan pro kg Körpergewicht ein (bei einem mittleren Tryptophangehalte der Nahrungsproteine von 2,0—2,4%). Es entspricht dies für einen Menschen von 70 kg einem Tagesbedarfe von 2,5—3,2 g Tryptophan.

b) Atypische Ernährungsformen.

Bei dem Beispiele Nr. 13 handelt es sich um ein zum Skelette abgemagertes 20jähriges Mädchen vom Gewichte von 35 (!) kg, dem infolge dyspeptischer Beschwerden nur flüssige Nahrung (bestehend aus Milch, Eiern, Butter und Zucker) beigebracht werden konnte. Die Tagesaufnahme an Eiweiß (ca. 100 g) und an Tryptophan (2 g) war eine normale. Die Tryptophanaufnahme pro kg Körpergewicht war jedoch (infolge der ganz abnormen Kleinheit des letzteren) größer, als in irgend einem anderen der von uns studierten Fälle, nämlich 0,057 g.

Auch bei dem Beispiele Nr. 14 handelt es sich um ausschließliche Ernährung mit flüssiger Nahrung; dasselbe betrifft einen Fall von Oesophagusstriktur nach Salzsäureverätzung. Die Tagesaufnahme an Roheiweiß betrug in diesem Falle 82 g; diejenige an Tryptophan (pro Kilo Körpergewicht) lag mit 0,037 g innerhalb der normalen Breite.

Als Beispiele chronisch unterernährter, anscheinend

auf einen niedrigen Nahrungsbedarf eingestellter Individuen von geringem Körpergewicht mögen die beiden Neapolitanerinnen (Fall 15 und 16) dienen. Die Tryptophanaufnahme pro Tag liegt hier (mit 0,032 bzw. 0,028 g pro Kilo Körpergewicht) wohl schon unter der Grenze des Normalen.

c) Rein vegetarische Ernährung.

Die Beispiele 17 bis 22 betreffen rein vegetarische Ernährung. Auch bei der Beurteilung derselben ist auf den Umstand wohl zu achten, daß es sich größtenteils um Individuen von recht geringem Körpergewicht gehandelt hat.

Ein besonderes Interesse bietet wohl der von Yukawa sorgfältig studierte Fall Nr. 18. Er ist aus einer großen Reihe von Beobachtungen über die rein vegetarische Diät der Insassen japanischer Klöster herausgegriffen. Es handelt sich um einen jüngeren, schon seit 2 Dezennien im Kloster ansässigen Mann von nur 43 Kilo Körpergewicht, der mit 35 (!) g Rohprotein und 0,020 g Tryptophan pro Kilo und Tag offenbar sein Auslangen gefunden hat.

Ein Seitenstück dazu bildet das (von Caspari und Glässner) beobachtete seit vielen Jahren streng vegetarisch lebende Berliner Ehepaar. Die früh gealterte Frau hat bei einem Körpergewicht von 58 kg sich mit 35 g Rohprotein in toto und mit 0,017 g Tryptophan pro Tag und Kilo begnügt. Der 70 kg schwere Mann hat mit seiner Tagesnahrung in 52 g Rohprotein auch nur 0,019 g Tryptophan pro Kilo aufgenommen.

Bei den anderen in unseren Tabellen figurierenden Vegetariern (Nr. 17 19, 20) finden wir bei einer Tagesaufnahme von 50—74 g Eiweiß einen Tagesbedarf von immerhin 0,027 bis 0,030 g Tryptophan pro Kilo, Zahlen, die von der unteren Grenze des Normalen noch nicht allzuweit entfernt sind.

d) Versuche über minimale Eiweiß- und Tryptophanaufnahme.

Wie schon erwähnt, kamen für uns nur Versuche mit positiver Stickstoffbilanz in Betracht.

Von besonderem Werte für die uns interessierende Frage erscheint (Beispiel Nr. 23) ein über 10 Monate ausgedehnter sorgfältiger Selbstversuch von R. O. Neumann, bei dem sich

(bei einer nicht allzureichlichen aber genügenden Ernährung von durchschnittlich 2400 Calorien und 57 g Reinprotein pro Tag) der tägliche Tryptophanbedarf pro Kilo Körpergewicht auf 0,018 g eingestellt hatte.

Diesem reiht sich (Beispiel Nr. 25) ein allerdings nur 6tägiger Selbstversuch von V. O. Sivén an mit einer Tagesaufnahme von 54 g Rohprotein und 0,017 g Tryptophan pro Kilo.

Ein ähnliches Resultat ergaben auch die Selbstversuche von M. Hindhede und F. Madsen (Nr. 27—29) bei einer zwar calorienreichen, jedoch fast ausschließlich aus Kartoffeln, bzw. Schwarzbrot und Margarine bestehenden Nahrung mit täglich 51—67 g Rohprotein und 0,017—0,020 g Tryptophan pro Kilo.

Der Selbstversuch von K. Thomas (Nr. 31) mit ausschließlicher Weizenbroternährung fällt aus der Reihe, da mit diesem tryptophanreichen Nahrungsmittel im Tage 0,026 g Tryptophan pro Kilo eingeführt worden sind.

Es verbleiben noch einige Versuche von allerdings sehr kurzer Dauer, bei denen es unter besonders günstigen Verhältnissen ohne Störung des N-Gleichgewichtes gelungen ist, die Eiweiß- und Tryptophanaufnahme noch wesentlich tiefer herunterzudrücken.

Beachtenswert erscheint mit Rücksicht auf seine immerhin mehrwöchentliche Dauer ein Selbstversuch von F. Hirschfeld (Nr. 24), bei dem die tägliche Reinproteinaufnahme auf 37 g, das Tryptophan pro Kilo auf 0,013 g abgesunken ist.

Noch etwas tiefer kam V. O. Siven (Nr. 26) mit täglich nur 39 g Rohprotein und 0,012 g Tryptophan pro Kilo.

Sehr niedrige Werte hat K. Thomas bei Versuchen von allerdings nur sehr kurzer Dauer erreicht: Bei ausschließlicher Ernährung mit Kartoffeln und Fett 28 g Reinprotein und 0,013 g Tryptophan pro Kilo und Tag. Ferner bei sehr kohlenhydrat- und calorienreicher, aber eiweißarmer Ernährung: Im Tage 41 g Reinprotein und 0,014 g Tryptophan pro Kilo bzw. 39 g Reinprotein und gar nur 0,010 g Tryptophan pro Kilo.

Einzig in ihrer Art dastehend sind endlich die Resultate von E. Abderhalden, G. Ewald, A. Fodor und C. Röse[1]). Die Versuchsperson (Röse) ernährte sich durch 54 Tage ausschließlich

[1]) Pflügers Arch. f. Physiol. 160, 511. 1915. Vgl. auch: Abderhaldens Lehrbuch. 3. Aufl., 2. Bd., S. 1379.

Fortsetzung auf S. 84.

Tabelle II.

Nummer	Autor	Literaturangabe	Charakterisierung des Versuches	Körpergewicht der Versuchsperson kg	Art der Tagesnahrung			
							Trypt. g	Roheiweiß g
1	C. Tigerstedt.	Skandin. Arch. f. Physiol. 34, 150 (1916).	Kost der körperlich arbeitenden Klasse in einem finnländischen Kirchspiel.	70 (Durchschnitt)	Fleisch	34 g	0,14	6,8
					Speck [1])	24 g	0,05	2,4
					Fisch	40 g	0,10	4,5
					Milch	1116 ccm	0,72	38,5
					Käse	4 g	0,02	1,2
					Butter	16 g	—	—
					Eier	5 g	0,02	0,6
					Weiches Roggenbrot [2])	124 g	0,20 }	
					Roggenbrot, hart [3])	78 g	0,19 }	21,8
					Roggenmehl	22 g	0,05 }	
					Weißbrot + Haferbrot	85 g [4])	0,10 }	11,5
					Weizenmehl	25 g	0,05 }	
					Gerstengrieß und andere Grützen	48 g	0,08	5,5
					Erbsen	20 g	0,07	4,4
					Kartoffeln	1460 g	0,78	18,9
					Früchte u. Fruchtsäfte	5 g	—	—
					Zucker	29 g	—	—
							2,52	116,1
						g	Eiweiß g	Tryptoph. g
2	S. Sundström.	Skandin. Arch. f. Physiol. 19, 78 (1907).	Kost im Studentenklub von Helsingfors.	70 (Durchschnitt)	Brot	191	16,5	0,38
					Butter	71,1	0,51	0,01
					Käse	21,6	5,18	0,10
					Milch	1094,8	37,16	0,93
					Fisch	24,0	3,48	0,06
					Gemüse	10,8	1,08	0,02
					Fleischaufschnitt	75,0	14,78 }	1,15
					„ warm	?	49,05 }	
					Kartoffeln	?	6,70	0,22
					Grütze	657,8	7,88	0,19
					Bouillon	128,2	3,05	0,05
					Tee, Kaffee m. Brot	—	5,58	0,18
							150,86	3,24
						g	Eiweiß g	Tryptoph. g
3	Ch. Jürgensen.	Zeitschr. f. Biolog. 22, 488. 1886.	Normale Ernährung eines Kopenhagener Arztes (85 Jhr. alt).	78½	Milch	1018	38	0,95
					Fleisch u. Fisch	297	53	0,95
					Weizenbrot	209	24	0,60
					Käse	39	11	0,22
					Butter	62	—	—
					Bayr. Bier	127	—	—
							126	2,72
						g	Eiweiß g	Tryptoph. g
4	Ch. Jürgensen.	Zeitschr. f. Biolog. 22, 488. 1886.	Normale Ernährung der Vorsteherin eines Mädcheninstituts (35 Jahre alt).	58	Milch	934	34	0,85
					Fleisch u. Fisch	126	26	0,47
					Weizenbrot	206	19	0,47
					Käse	20	6	0,12
					Butter	41	—	—
					Bier	106	—	—
							85	1,91

Tabelle II.

Eiweiß		Tryptophan			Calorien	Anmerkungen
gesamte Tagesaufnahme		gesamte Tagesaufnahme	Aufnahme pro kg Körpergewicht und Tag	mittlerer Gehalt der Nahrungsproteine	gesamter Gehalt der Tagesnahrung	
Roheiweiß g	Reineiweiß g	g	g	%		
116	—	2,52	0,036	2,18	3070	[1]) Speck enthält ca. 10% Eiweiß (Fleisch = 20%). [2]) 124 g weiches Roggenbrot = 98 g Roggenmehl. [3]) 78 g hartes Roggenbrot = 65 g Roggenmehl. [4]) 85 g Weißbrötchen = 50 g Weizenmehl. Die Tryptophanmengen wurden aus den Gewichtszahlen der Nahrungsstoffe auf Grund der Tabelle I berechnet.
151	—	3,24	0,046	2,14	3084	Die Tryptophanmengen wurden auf dem Wege der Eiweißzellen auf Grund der Tabelle I berechnet.
126	—	2,72	0,037	2,16	—	Berechnung wie 2.
85	—	1,91	0,033	2,24	—	Desgl.

Nummer	Autor	Literaturangabe	Charakterisierung des Versuches	Körpergewicht der Versuchsperson kg	Art der Tagesnahrung
5	C. Voit.	Über die Kost in öffentl. Anstalten. München.	Kriegsverpflegung einrückender preußischer Soldaten 1870.	70 (Durchschnitt)	Eiweiß g / Tryptoph. g Brot . . . . 750 g — 62 — 1,43 Fleisch . . . . 500 g } 95 — 1,71 Speck . . . . 250 g } Wein . . . . 500 g — — — — Summe: 157 — 3,14
6	C. Voit.	Üb. d. Kost in öffentl. Anstalten. München 1876.	Garnisonsverpflegung des bayrischen Heeres.	70 (Durchschnitt)	Eiweiß g / Tryptoph. g Fleisch . . . . 150 g — 27 — 0,49 Reis . . . . 90 g — 7 — 0,20 Kartoffeln . . . . . 1500 g — 30 — 0,99 Brot . . . . 750 g — 62 — 1,43 Summe: 126 — 3,11
7	F. Erismann.	Arch. f. Hygiene 9, 26 (1889).	Kost der Arbeiterbevölkerung in Zentralrußland.	70 (Durchschnitt)	Schwarzbrot 862 g, Buchweizen, Graupen [1]) 257 g, Sauerkohl [2]) 208 g, Rindfleisch 85 g, Kartoffeln 87 g, Öl und Schmalz 60 g, Weizenmehl 20 g, getrocknete Erbsen 18 g, Schweinefleisch 12 g, Weißbrot 9 g, gesalzene Fische 8 g, frische Fische 6 g, ferner Graupen, Butter, Schwämme, Eingeweide, Makkaroni, Eier, Würste, Speck im Gesamtgewicht von 10 g [3]).
8	E. Steinheil.	Z. f. Biolog. 13, 415 (1877).	Kost deutscher Bergleute b. Ems.	70 (Durchschnitt)	Gebrannter Kaffee 12 g, Zichorie 2 g, reines Fleisch 68 g, Fett 12 g, geräucherter Speck 43 g, Kochsalz 18 g, Schwarzbrot (Roggen) 782 g, Butter 45 g, Kartoffeln roh 274 g, dsgl. gedämpft 240 g, weiße Bohnen 63 g, Erbsen 42 g, Gries (Gerste) 31 g, Linsen 58 g, Weizenmehl 8 g, Essig 9 g, Reis 31 g, Rüböl 2 g. (S. 421.)
9	L. Manfredi.	Arch. f. Hygiene 17, 552 (1893).	Kost eines Neapolitaners (40 jähriger Tischler).	63	Tabelle IV, S. 581. Mittags: Fisolensuppe u. Makkaroni u. Brot. Abends: Getrockn. Schweinefleisch u. Brot. Eiweiß g / Tryptoph. g Brot . . . . 312 g — 17,2 — 0,43 Fisolensuppe u. Makkaroni ? — 29,5 — 0,74 Brot . . . . 333 g — 18,6 — 0,47 Schweinefleisch getr. . . 150 g — 46,0 — 0,87 Summe: 111,3 — 2,51
10	L. Manfredi.	Arch. f. Hygiene 17, 552 (1893).	Kost eines Neapolitaners (34 jähriger Schuhflicker).	55	Tabelle I, S. 576. Mittags: Karfiolsuppe m. Fleisch u. Brot. Abends: Käse u. Brot. Eiweiß g / Tryptoph. g Brot . . . . 468 g — 25,7 — 0,64 Käse (Parmesan) . . . . 54 g — 9,4 — 0,19 Fleisch (Eingeweide) . . ? — 51,4 — 0,92 Summe: 86,5 — 1,75

Eiweiß		Tryptophan			Calorien	Anmerkungen
gesamte Tagesaufnahme		gesamte Tagesaufnahme	Aufnahme pro kg Körpergewicht und Tag	mittlerer Gehalt der Nahrungsproteine	gesamter Gehalt der Tagesnahrung	
Roheiweiß	Reineiweiß					
g	g	g	g	%		
157	—	3,14	0,045	2,00	—	Berechnung wie 2.
128	—	3,11	0,044	2,44	—	Desgl.
—	132	3,04	0,043	2,30	—	Desgl. [1]) Schätzungsweise wurde Trypt.-Gehalt mit 2,5 als Mittelwert für vegetabl. Eiweiß angesetzt. [2]) Sauerkohl = Sauerkraut, angenommen mit 4% Tryptophan. [3]) Wurde vernachlässigt. Die Daten sind genau berechnete Mittelwerte der Kost einer Kostgemeinschaft (Artele).
133	—	3,02	0,043	2,28	—	Berechnung wie 2.
111	—	2,51	0,040	2,25	-	Desgl.
87	—	1,75	0,032	2,06	—	Desgl.

Nummer	Autor	Literaturangabe	Charakterisierung des Versuches	Körpergewicht der Versuchsperson. kg	Art der Tagesnahrung
11	L. Manfredi.	Arch. f. Hygiene 17, 552 (1893).	Kost eines Neapolitaners (25 jähriger Lazzarone).	50	Tabelle VII, S. 588. Mittags: Makkaroni mit Tomatensauce, Brot. Abends: Gebackener Fisch u. Brot. — g / Eiweiß g / Tryptoph. g Brot . . . . .482 / 26,5 / 0,66 Makkaroni mit Sauce 589 / 41,3 / 1,03 Gebackener Fisch . . .100 / 11,2 / 0,20 Summe: 79,0 / 1,89
12	M. Kumagawa.	Virchows Arch. 116, 376. 1889.	Gemischte japanische Kost (Selbstversuch).	48	S. 398. Roher Reis 485 g, Rindfleisch mager 102 g. Hechtfleisch 48 g, Eier 95 g, Kohlrüben 236 g. Zwiebel[1]) 148 g, Miso[2]) 40 g, Rohrzucker 6 g. Schoju[3]) 57 ccm, Bier 849 ccm, Teeinfus 1157 ccm, Wasser 458 ccm.
13	G. Klemperer.	Zeitschr. f. klin. Med. 16, 550. 1889.	Ernährung eines hochgradig abgemagerten 20 jährigen Mädchens (dyspeptischen Beschwerden) mit flüssiger Nahrung.	35	S. 597. — / Roheiweiß g / Trypt. g Milch[1]) . . . . . 2 l / 62,5 / 1,30 Eier . . . . 6 Stck. / 36,6 / 0,70 Butter . . . . . . 60 g / 0,4 / 0,01 Zucker . . . . . . 90 g / — / — Summe: 99,5 / 2,01
14	G. Klemperer.	Zeitschr. f. klin. Med. 16, 550. 1889.	Ernährung eines 24 jährigen Mannes mit Oesophagusstriktur nach Salzsäureverätzung.	46	S. 600. — / Roheiweiß g / Trypt. g Milch . . . . . . 2 l / 62,5 / 1 30 Eier . . . . 2 Stck. / 12,2 / 0,23 Butter . . . . . . 40 g / — / — Brot . . . . . . .100 g / 7,0 / 0,18 Summe: 81,7 / 1,71
15	L. Manfredi.	Arch. f. Hygiene 17, 552. 1893.	Schwer unterernährte 70 jährige Tagelöhnerin aus Neapel.	38 l	S. 578, Tabelle III. Mittags: Pastasuppe u. Brot. Abends: Rahmkäse u. Brot. g / Eiweiß g / Tryptoph. g Brot[1]) . . . . . . .307 / 16,9 / 0,42 Pastasuppe[2]) . . . . — / 25,0 / 0,60 Rahmkäse . . . . . . 50 / 9,8 / 0,20 Summe: 51,7 / 1,22
16	L. Manfredi.	Arch. f. Hygiene 17. 552. 1883.	Unterernährte 40 j. Arbeiterin aus Neapel.	48	S. 579. Mittags: Schellfischsuppe u. Brot. Abends: Sardinen mit Öl u. Brot. — / Eiweiß g / Tryptoph. g Brot . . . . .430 g / 23,7 / 0,59 Schellfisch u. Sardin. / 41,4 / 0,75 Summe: 65,1 / 1,34
17	M. Kumagawa.	Virchows Arch. 116, 376. 1889.	Vegetabil. japan. Kost. (Mittel von 9 Tg., Selbstvers.)	48	Reis 600 g. Miso[1]) 100 g, Kohlrüben 900 g, Rohzucker 28 g, Schoju[1]) 10 ccm, Bier 594 ccm, Teeinfus 583 ccm, Wasser 978 ccm.

Eiweiß gesamte Tagesaufnahme Roheiweiß g	Eiweiß gesamte Tagesaufnahme Reineiweiß g	Tryptophan gesamte Tagesaufnahme g	Tryptophan Aufnahme pro kg Körpergewicht und Tag g	Tryptophan mittlerer Gehalt der Nahrungsproteine %	Calorien gesamter Gehalt der Tagesnahrung	Anmerkungen
79	—	1,89	0,088	2,40	—	Berechnung wie 2.
—	86	1,80	0,039	2,00	—	Tryptophan aus Reinprotein berechnet. [1]) Zwiebel. Veget. Eiweiß mit 2% Trypt. angesetzt. [2]) Halbweiche Masse, durch Gärung aus Sojabohnen erhalten. [3]) Sauce aus Sojabohnen und Weizenmehl durch Gärung erhalten.
100	—	2,01	0,057	2,02	—	[1]) 100 ccm Milch angesetzt mit 0,065% Tryptoph.
82	—	1,71	0,087	2,08	—	
52	—	1,22	0,062	2,35	—	[1]) Weizenbrot. [2]) Mittelzahl aus Zerealienmehl 2,4% Trypt. angenommen.
65	—	1,34	0,028	2,06	—	
—	50	1,32	0,027	2,60	—	[1]) S. Anmerkung bei Nr. 12.

Nummer	Autor	Literaturangabe	Charakterisierung des Versuches	Körpergewicht der Versuchsperson. kg	Art der Tagesnahrung
18	G. Yukawa.	Arch. f. Verdauungskrankheiten 15, 471. 1900.	Rein vegetarische Kost japanischer Bonzen in einem Kloster. (34 jähri- Mann bereits seit 19 Jahren im Kloster.)	48	S. 500, 497. Gerstenreis 488 g, Reisbrei 822 g, gekochtes Takuhan [1]) 72 g, Misosuppe [2]) 418 g, Anmochi [3]) 210 g, Tee 510 g.
19	G. Yukawa.	Arch. f. Verdauungskrankheiten 15, 471. 1909.	Desgl. (70 jähriger Mann, seit 60 Jahren im Kloster.)	50	S. 517, 498. Gerstenreis 1805 g, Reisbrei 675 g, gekochter Rettich 274 g, Takuhan 82 g, Spinat 135 g, Tee 680 g, Sake [1]) 270 g.
20	Th. Rumpf und O. Schumm	Zeitschr. f. Biol. 39, 153 (1900).	Kost eines 19 jährigen Vegetariers. (Mittel aus 8 tägigem Versuch.)	63	S. 155. Grahambrot 834 g, Äpfel [1]) 1161 g, Datteln [1]) 250 g, Oats (Hafermehl) 141 g, Reis 100 g, Zucker 75 g, Wallnüsse 28 g.
21	W. Caspari u. K. Gläßner.	Zeitschrift f. physikal. u. diätet. Therapie 7, 475 (1904).	Kost eines Ehepaares in Berlin, seit vielen Jahren Vegetarier. (49-jähriger Mann.)	70	S. 474. Kaffee 20 g, Zucker 46 g, Datteln 390 g [1]), Haselnüsse 118 g, Leinöl 154 g, Kartoffeln 1005 g, Karotten 80 g [2]).
22	W. Caspari u. K. Gläßner.	Zeitschrift f. physikal. u. diätet. Therapie 7, 475 (1904).	Desgl. (48 jährige Frau, früh gealtert.)	58	S. 478. Kaffee 20 g, Leinöl 95 g, Kartoffeln 1091 g, Karotten 80 g, Kakes 100 g [1]).
23	R. O. Neumann.	Archiv für Hygiene 45, 1 (1902).	Eiweißminimumversuch. (Mittelwert aus Selbstversuch von 10-monatl. Dauer).	66—67	Tagesnahrung im Mittel Eiweiß 66 g, Fett 83 g, Kohlenhydrat 280 g, Alkohol 44 g. S. 32.

	g	Reinprot. g	Trypt. g
Rindfleisch	41	7,88 [1])	0,13
Schinken	4	0,89	0,02
Hering	22	2,88	0,06
Cervelatwurst . . .	7	1,12	0,02
Blutwurst	87	3,81	0,07
Eier	37	4,59	0,09
Milch	120	4,19 [2])	0,10
Butter	24	0,17	0,01
Käse	36	5,84 [3])	0,11
Quark	18	5,27 [4])	0,11
Schweinefett	21	—	—
Brot	251	18,24 [5])	0,30
Kartoffeln	66	0,92 [6])	0,03
Zucker	10	—	—
Öl	9	—	—
Bier	1223	7,54 [7])	0,17
		57,24	1,22

Nummer	Autor	Literaturangabe	Charakterisierung des Versuches	Körpergewicht der Versuchsperson. kg	Art der Tagesnahrung
24	F. Hirschfeld.	Pflügers Archiv 41, 533. 1887.	Eiweißminimumversuch. (Mehrwöchiger Selbstversuch eines 24-jährigen Mannes.)	73	S. 542. Kartoffeln 500 g [1]), Butter 150 g, Reis 150 g, 1 Ei, Milch 100 g, Bier 1½ l, Wein ¼ l, Kaffee 20 g, Zucker 60 g.

Eiweiß		Tryptophan			Calorien	Anmerkungen
gesamte Tagesaufnahme		gesamte Tagesaufnahme	Aufnahme pro kg Körpergewicht und Tag	mittlerer Gehalt der Nahrungsproteine	gesamter Gehalt der Tagesnahrung	
Roheiweiß g	Reineiweiß g	g	g	%		
35	—	0,86	0,020	2,47	1700	1) Takuhan = großer Wasserrettich. Trypt. = 2% angenommen. 2) Speise aus Reis und Erbsen. 3) Speise aus Reis und Bohnen.
57	—	1,48	0,030	2,06	2000	Siehe oben. 1) Alkoholisches Getränk aus vergorenem Reis.
74	—	1,69	0,027	2,28	3432	1) Tryptophan im Eiweiß schätzungsweise mit 2% angesetzt.
52	—	1,38	0,019	2,55	4555	1) Schätzungswert im Eiweiß mit 2 % Tryptophan.
35	—	0,97	0,017	2,78	—	1) Als Weizenmehl berechnet.
66	57	1,22	0,018	2,13	2400	1) Beim Fleisch werden 100 Roheiweiß = 88 Reineiweiß angesetzt. 2) Kuhmilch enthält nach König (8. Aufl.) im Mittel 3,55 % Reinprotein (i. e. Kasein + Albumin). 3) Im Käse nach Schulze u. Barbiei (König I, 828) Relation Reinprotein : Rohprotein = 22 : 28. 4) Im Roggenmehl nach M. Fischer (König I, 470) Rohprotein; Reinprotein = 11,2 : 9,7. 5) Nach eigenen Analysen in Kartoffeln Rohprotein : Reinprotein = 9,4 : 6,5. 6) Als Gersteneiweiß gerechnet nach Farsky (König I, 518) Rohprotein : Reinprotein = 7,6 : 6,7.
42	37	0,97	0,013	2,62	—	Zwei Versuchsreihen ergaben positive N-Bilanz bei Aufnahme v. 40—45 g Rohprotein resp. 35—40 g Reinprot. 1) Siehe Nr. 23 Anm. 5.

Nummer	Autor	Literaturangabe	Charakterisierung des Versuches	Körpergewicht der Versuchsperson. kg	Art der Tagesnahrung
25	V. Sivén.	Skandin. Archiv für Physiol. **10, 91** (1900).	Eiweißminimumversuch, (Selbstversuch, 6tägig.)	61	S. 111, Serie III. Roggenbrot **140 g**, Butter 100 g, Zucker 60 g, Tee 600 g, **Milch u. Sahne** 430 g, **Kaffee** 300 g, Bier **880 g**, **Kartoffelpüree** 200 g, Reisgrütze 200 g.
26	V. O. Sivén.	Skandin. Archiv für Physiol. **10**, 91 (1900).	Desgl.	61	Serie IV. Roggenbrot **140 g**, **Butter 115 g**, Tee 800 g, Zucker **100 g**, **Kaffee 300 g**, **Sahne 45 g**, Äpfel 200 g, **Kartoffelpüree 800 g**, **Bier** 880 g.
27	M. Hindhede.	Skandin. Archiv für Physiol. **30, 97** (1913).	Eiweißminimumselbstversuch. (8-tägig, ausschließl. Ernähr. m. Kartoffeln u. Margarine.)	70	Periode III, S. 112 u. 118. Kartoffeln **2857 g**, **Margarine 157 g**.
28	M. Hindhede.	Skand. Archiv für Physiol. **30, 97** (1913).	Desgl. (Versuch von Frederic Madsen, hat August b. November 1912 ausschl. von Kartoffeln u. Margarine gelebt.)	72	S. 152 (10 Tage). Kartoffeln **3950 g**, **Margarine** 225 g.
29	M. Hindhede.	Skandin. Archiv für Physiol. **31**, 259. 1914.	Eiweißminimumversuch v. Holger Madsen. (Ausschl. Ernährung mit **Schwarzbrot und Margar.; 6 Tage**).	66	S. 281. **Tägliche Kost**: **Schwarzbrot 816 g**, **Margarine 127 g**.
30	K. Thomas.	**Archiv für (An. u.) Physiol. 1909**, S. 219.	**Eiweißminimumselbstversuch** bei **ausschließl. Ernährung mit Kartoffeln und Fett.** (1tägiger Versuch m. pos. N-Bilanz, sonst Bilanz neg.)	70	S. 229 u. 281. Tägliche Kost: **Kartoffeln 2700 g**, Butter 182 g (vernachlässigt). **Öl 21 g**, **NaCl** 32 g.
31	K. Thomas.	Archiv für (An. u.) Physiol. **1909**, S. 219.	Desgl. (bei ausschl. Ernähr. mit Weizenbrot. (1täg. Vers. m. pos. N-Bilanz.)	74	S. 283, 224. Tägliche Kost: Weizenbrot **1200 g**.
32	K. Thomas.	Archiv für (An. u.) Physiol. **1909**, S. 219.	Desgl. (bei kohlehydratreicher Nahrung. 1tägiger Versuch m. pos. N-Bilanz.)	72	S. 295. Weizenmehl 500 g, Stärke 100 g, **Milchzucker** 250 g, Rohrzucker 230 g, **Butter 250 g**.
30	K. Thomas.	Archiv für (An. u.) Physiol. **1909**, S. 219.	Desgl. (1tägig. Versuch mit positiver N-Bilanz.)	72	S. 291. Fleisch 200 g, **Milchzucker 600 g**, Stärke 200 g, Rohrzucker 50 g, 2 Zitronen (vernachlässigt).

Eiweiß		Tryptophan			Calorien	Anmerkungen
gesamte Tagesaufnahme		gesamte Tagesaufnahme	Aufnahme pro kg Körpergewicht und Tag	mittlerer Gehalt der Nahrungsproteine	gesamter Gehalt der Tagesnahrung	
Roheiweiß g	Reineiweiß g	g	g	%		
54	—	1,06	0,017	1,90	2486	Für Roggenbrot u. Kartoffeln Rohprotein in Reinprotein umgerechnet und der Berechnung zugrunde gelegt. Milch mit 0,065 % Tryptoph. angesetzt.
39	—	0,71	0,012	1,82	2477	1) Für Äpfel im Eiweiß Schätzung 2% Tryptophan.
51	ca. 35 1)	1,15	0,017	3,3	3500	1) Umrechnung nach Relation von M. Kreusler (König I, 710), Mittel f. Kartoff. 2,63% Rohprot., 1,80% Reinprotein m. 3,3% Tryptophan.
64	ca. 44 1)	1,44	0,020	3,3	5085	1) Siehe Nr. 27.
67	58	1,33	0,020	2,3	ca. 3000	816 Roggenmehl m. 10,68 g N, entspr. 66,8 g Roheiweiß. Im Roggenmehl entsprechen nach M. Fischer (König I, 470) 100 g Rohprotein 86,4 g Reinprotein. Daher 66,8 g Roheiweiß entsprechen 57,7 g Reinprotein. Roggenprotein enthält 2,3 % Tryptophan.
45	28	0,93	0,018	3,3	3200	2700 g Kartoffeln m. 7,158 g N entsprachen 44,7 g Rohprotein. Vom N der Kartoffeln sind (S. 268) 63% Eiweiß-N. Demnach sind von 7,158 g N nur 4,51 g Reinprotein N, i. e. 28,1 g Reinprotein mit 3,3% Tryptophan.
109	78	1,95	0,026	2,5	3020	1200 g Brot enthielten 17,47 g N (entsprechend 109 g Rohprotein mit 71,4 % Reinprotein i. e. 78 g Reinprot. mit 2,5 % Tryptophan.
57	41	1,01	0,014	2,5	6100	Berechnung analog Nr. 31. (Eiweißgehalt der Butter vernachlässigt.)
44	39	0,69	0,010	1,8	3667	200 g Fleisch mit 7,04 g N, davon 6,16 g Reinprotein-N (87,5% nach S. 268) i. e. 38,5 g Reinprotein. Rindfleisch enthält 1,8% Tryptophan.

mit Kartoffeln, Brot, Fett und Zucker, ohne wesentlich an Körpergewicht einzubüßen. „Während der Zeit, in der der Stickstoff nur in Form von Kartoffeln zugeführt wurde, kam Röse mit 4,0 g N aus. 4,0 · 6,25 = 25 g Eiweiß Roheiweiß). Bei Brotnahrung waren zur Wahrung des N-Gleichgewichtes 7,0 bis 7,5 g N erforderlich."

25 g Rohprotein aus Kartoffeln entspricht (s. o. Barnstein) 17,3 g Reinprotein, mithin auf Grund unserer Bestimmungen 0,57 g Tryptophan pro Tag resp. 0,009 g Tryptophan pro Kilo und Tag.

Für Weizenbrotnahrung ergibt sich (s. o.): 7 g N entspricht 44 g Rohprotein, resp. 33 g Reinprotein, d. i.

0,83 g Tryptophan pro Tag oder
0,013 g Tryptophan pro Tag und Kilo.

Es sei bezüglich derartiger und ähnlicher Versuche von kurzer Dauer nachdrücklich hervorgehoben, daß der Beweis, daß derartige Minimalwerte der andauernden Ernährung eines Individuums, geschweige denn weiterer Volkskreise genügen könnten, weder erbracht, noch aber auch beabsichtigt worden ist.

Unsere Schlußfolgerungen sind in der Zusammenfassung (s. u.) wiedergegeben.

Zusammenfassung.

1. In bezug auf die Tryptophanbestimmung in Nahrungsmitteln hat sich für Fleischwaren, Eier u. dgl. die einfache colorimetrische Bestimmung nach Lösung einer abgewogenen Probe in starker Alkalilauge in der Wärme als brauchbar erwiesen Dieselbe versagt jedoch bei stärkereichen Stoffen (wie Cerealiensamen), fettreichen Materialien (wie Käse) und bei tryptophanarmen vegetabilischen Produkten.

2. Der Tryptophanbestimmung in Cerealiensamen und Mehlen muß die Abtrennung der Eiweißkörper vorangehen und zwar einerseits der globulinartigen Proteine (durch Extraktion mit einer verdünnten Salzlösung in der Kälte) und andererseits der alkohollöslichen Protamine (durch Alkoholextraktion in der Wärme). Die Globuline werden durch Essigsäure, die Protamine aus alkoholischer Lösung durch Wasserzusatz niedergeschlagen und in bezug auf ihren prozentischen Tryptophangehalt untersucht. Nach Feststellung der in geson-

derten Proben des Ausgangsmaterials enthaltenen Globulin- und Protaminmengen kann sodann der Tryptophangehalt des ersteren berechnet werden.

3. Auch im Leguminosensamen, im Reis u. dgl. werden zweckmäßigerweise die Proteine vor der Tryptophanbestimmung durch Schütteln mit verdünnter Salzlösung extrahiert und man ermittelt nach Fällung mit Essigsäure in einer Probe derselben den prozentischen Tryptophangehalt. Der Berechnung des Tryptophangehaltes des Materiales muß die Ermittlung des Reinproteingehaltes vorangehen.

4. Aus tryptophanarmen Vegetabilien, wie grünen Gemüsen, Kartoffeln u. dgl. bereitet man zweckmäßigerweise einen Preßsaft, fällt die Proteine aus demselben durch Essigsäure und Wärmekoagulation und bestimmt sodann in der Fällung den prozentischen Tryptophangehalt. Auch hier ist für die Umrechnung die Reinproteinbestimmung im Ausgangsmateriale unerläßlich.

5. Bei gemischter Ernährung des Erwachsenen ist der mittlere Tryptophangehalt der Nahrungsproteine mit 2,0 bis 2,4% zu bewerten.

6. An der Hand einer größeren Anzahl von Beispielen aus der Stoffwechselliteratur, die verschiedene in allen ihren Einzelheiten bekannte Ernährungstypen betrafen, konnte der tägliche Tryptophanbedarf des erwachsenen Menschen rechnerisch ermittelt werden. Derselbe kann für ein Individuum von 70 Kilo Körpergewicht bei freigewählter, ausgiebiger Ernährung mit 2,5—3,2 g (i. e. mit 0,036—0,046 g Tryptophan pro Kilo Körpergewicht und Tag) veranschlagt werden.

7. Die Tryptophanzufuhr kann aber sicherlich bei sonst ausreichender Ernährung und unter günstigen Bedingungen sehr erheblich, etwa bis auf 0,017—0,020 g pro Kilo und Tag (also auf die Hälfte) herabgedrückt werden, ohne daß das Individuum Schaden zu leiden brauchte. Kurze Zeit hindurch vermag der Organismus anscheinend sogar mit einer Tageszufuhr von 0,015 bis 0,009 g Tryptophan pro Kilo auszukommen, ohne daß das Stickstoffgleichgewicht sogleich einen Umsturz erleiden müßte. Wie lange der Organismus mit einer derartigen geringen Tryptophanaufnahme auszukommen vermag, erscheint aber noch nicht klargestellt.

Ein Beitrag zur Frage der chemischen Konstitution des Protoplasmas.

Von

Heinrich Walter.

(Aus dem Botanischen Institut der Universität Marburg a. L.)

(Eingegangen am 16. Juni 1921.)

Mit 3 Abbildungen im Text.

Eine genaue Gesamtanalyse des Protoplasmas läßt sich bei höheren Pflanzen nur sehr schwer durchführen, denn das Protoplasma enthält zu viele nebensächliche Bestandteile, und die einzelnen Zellen sind außerdem von einer Zellulosemembran umgeben, wodurch es schwierig ist, größere Mengen von Plasma zu erhalten. Man muß sich aus diesem Grunde auf die mikrochemischen Methoden beschränken.

Eine verhältnismäßig genaue Gesamtanalyse ist dagegen 1881 von Reinke für das Protoplasma von Äthalien der Lohblüte (Fuligo varians) gemacht worden, und diese Analyse wird auch in den meisten Lehrbüchern bei Besprechung der Chemie des Protoplasmas angeführt in der Annahme, daß ein wesentlicher Unterschied zwischen höheren und niederen Pflanzen nicht besteht. Es war nun interessant, einen Vergleich zwischen den Ergebnissen der mikrochemischen Untersuchungen und der makrochemischen Analyse durchzuführen. Zu diesem Zwecke mußte aber vor allen Dingen gezeigt werden, daß tatsächlich die chemische Konstitution des Protoplasmas bei höheren Pflanzen und Myxomyceten nicht wesentlich verschieden ist. Ich bediente mich dabei der künstlichen Verdauung mit Pepsin-HCl und Trypsin. Beide Enzyme haben keine besonders spezifische Wirkung, greifen aber doch nur bestimmte Gruppen von Eiweißstoffen an. Biedermann[1]) hat nun gezeigt, daß das Plasma der

[1]) W. Biedermann, Beitrag zur vergleichenden Physiologie der Verdauung VII (Pflügers Arch. 174).

höheren Pflanzen bei künstlicher Verdauung sich sehr eigentümlich verhält, indem nicht vorher extrahiertes Plasma überhaupt nicht angegriffen wird, nach der Extraktion mit Alkohol, Äther und Chloroform aber Pepsin nur unvollständig verdaut, bei Behandlung mit Trypsin dagegen rasch vollständige Auflösung eintritt. Unter den niederen Pflanzen verhielten sich Pilze, Diatomeen und einige Grünalgen ebenso. Spirogyra und die von mir untersuchte Hefe[1]) dagegen zeigte ein ganz anderes Verhalten. Wenn also, wie es die folgenden Versuche auch zeigen, Myxomycetenplasma sich ebenso, wie das der höheren Pflanzen verhält, so kann man mit einiger Sicherheit behaupten, daß die chemische Konstitution derjenigen der höheren Pflanzen wenigstens nahe steht.

Die Versuche wurden mit der gewöhnlichen Lohblüte (Fuligo varians), welche aus dem Lohehaufen einer Gerberei stammte, ausgeführt, und zwar sowohl mit Sklerotien wie auch mit Plasmodien. Als Verdauungsenzyme dienten die Präparate von Grübler & Co.-Trypsin sicc. und Pepsin purissimum. Das Trypsinpräparat wurde in 0,5% Na_2CO_3-Lösung, das Pepsin in 0,3% HCl aufgelöst und die Wirksamkeit mit Fibrin geprüft. Verdaut wurde in einem Thermostaten bei 40° C.

Versuchsserie I.

Plasmodien und Sklerotien, lebende oder nur durch Kochen getötete wurden mit Pepsin und Trypsin 24 Stunden behandelt. Es ist keine deutliche Veränderung wahrzunehmen, nur der gelbe Farbstoff ist zum Teil herausgelöst und in alkalischer Flüssigkeit schwach bräunlich geworden. Die makrochemische Untersuchung der Verdauungsflüssigkeit ließ auf keine wesentliche Verdauung schließen. Auch die mikroskopische Untersuchung zeigt keine deutliche Veränderung, — die Zellen der Sklerotien sind mit Plasma gefüllt, die Umrisse der Plasmodien scharf erhalten geblieben.

Die Sklerotien und Plasmodien wurden nun 1 Stunde in kochendem Alkohol absolutus, dann 2 Tage mit Äther extrahiert und schließlich in Chloroform aufbewahrt. Vor den Versuchen wurden sie erst mit Alkohol abs., dann mit Wasser ausgewaschen.

---

[1]) H. Walter, Das Verhalten der Hefezellen gegen Proteasen (Pflügers Arch. **181**).

Zerdrückt man solche extrahierte Sklerotien, so zerfallen sie leicht in die einzelnen Zellen, aus denen sie bestehen. Diese haben eine mehr oder weniger rundliche Form und einen feinkörnigen plasmatischen Inhalt. In vielen Zellen befindet sich eine

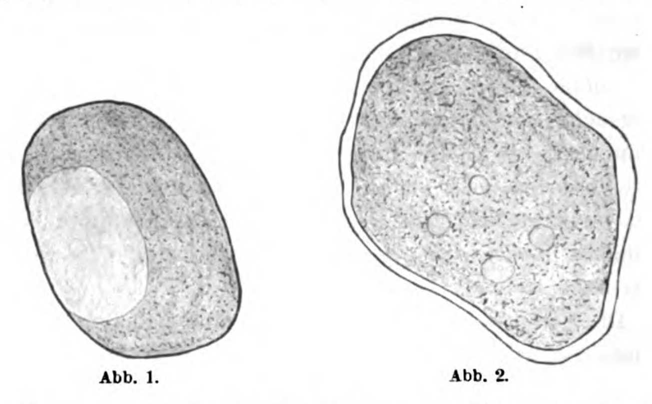


Abb. 1. Abb. 2.

große Vakuole, wobei das Plasma oft sichelförmig 3 Wänden anliegt, wie es Abb. 1 zeigt. Außerdem fallen noch andere Zellen auf, die bei der Extraktion ihren Farbstoff nicht ganz abgegeben haben und deshalb gelblich erscheinen. Sie sind weniger durchsichtig und haben eine derbere Membran (Abb. 2).

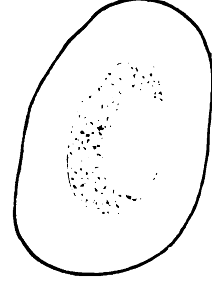
Versuchsserie II.

Solche isolierte Zellen von extrahierten Sklerotien werden unter dem Mikroskop mit Trypsin bei 40° verdaut. Der Inhalt wird allmählich immer durchsichtiger und nach 2 Stunden sind die meisten Zellen entleert. Es verbleiben nur die leeren Membranen. Die derbwandigen Zellen sind auch jetzt resistenter und werden fast gar nicht angegriffen. Behandelt man ganze extrahierte Sklerotien im Reagensrohre längere Zeit mit Trypsin, so werden sie auch immer durchsichtiger und zerfallen in einzelne Flocken. Bei Betrachtung dieser Flocken unter dem Mikroskope hat man ein aus polyädrischen Zellen bestehendes Gewebe vor sich. Die meisten Zellen sind vollkommen leer. Bei den verbliebenen Membranen konnte ich im Gegensatz zu de Bary und Zopf nicht nur mit Chlor-Zink-Jod, sondern auch mit Jod-Jodkalium deutliche Violettfärbung beobachten. Von den Sklerotien wurden die bei der Extraktion fast vollkommen entfärbten am leichtesten verdaut, braune dagegen schwerer angegriffen.

Bei der Entstehung von Plasmodien aus Sklerotien scheinen sich ebenfalls nicht alle Zellen gleich zu verhalten, denn nach de Bary „führen die aus den Sklerotien frisch entstandenen Plasmodien eine sehr große Menge unveränderter oder deutlich (unter Bräunung des Pigmentes) abgestorbener Zellen in ihrem Körnerstrome hin und her"[1]).

Versuchsserie III.

Auf dieselbe Weise wurden Sklerotienzellen und Sklerotien nach vorheriger Extraktion der Verdauung mit Pepsin-HCl unterworfen. Die Zellen behalten dabei immer noch Zellinhalt, aber das Plasma nimmt nicht mehr das ganze Zellumen ein, sondern nur einen Teil, so daß auch die Zellen mit sichelförmigem Inhalt die Form, wie sie auf Abb. 3 dargestellt ist, annehmen. Der Zellinhalt wird dabei etwas blasser. Die derbwandigen Zellen werden nicht angegriffen. Dieses Verhalten stimmt ganz mit demjenigen bei höheren Pflanzen überein, denn bei plasmolysierten und extrahierten Elodeablättern, die zur Kontrolle genommen wurden, zeigte der Plasmaballen nach Pepsin-HCl-Verdauung eine gleiche Volumabnahme. Die ganzen Sklerotien wurden ebenfalls nicht so stark angegriffen wie nach Trypsin-Verdauung. Sie zerfielen nicht in einzelne Flocken, wurden aber so brüchig, daß sie beim Auflegen eines Deckglases zerdrückt wurden.


Abb. 3.

Zum Vergleich wurden dieselben Versuche mit Plasmodien ausgeführt. Zu diesem Zwecke wurde mit Plasmodien durchsetzte Lohe in eine feucht gehaltene Glasschale gelegt. Die Plasmodien krochen dann meist auf den Glasboden, konnten mit einem Spatel abgehoben und sofort in Alkohol übertragen werden. In einem solchen Plasmahaufen fließen die Pseudopodien nicht zusammen, sondern durch das rasche Fixieren bleiben ihre Konturen auch nach der Extraktion zum Teil scharf umgrenzt. An ihnen konnte dann die Einwirkung der Enzyme am besten beobachtet werden.

---

[1]) de Bary, Die Mycetozoen (Schleimpilze) 1864. S. 103.

Versuchsserie IV.

Extrahierte Plasmodien wurden von Trypsin vollkommen verdaut. Es verblieben nur einzelne Verunreinigungen, die zum größten Teile aus Lohestückchen bestanden, und eine schleimige Grundmasse mit einzelnen kleinen, nicht näher definierbaren Körnchen und zahlreichen Kalkkonkrementen (mit H_2SO_4 gaben sie schöne Gipsnadeln). Die schleimige Masse wird wohl mit der, von de Bary als Hülle bezeichneten identisch sein; sie umgibt die Plasmodien und ist von der Randschicht deutlich zu unterscheiden. Es handelt sich hier jedenfalls um keinen Eiweißkörper. Die Verdauung war schon nach 2 Stunden zum größten Teil beendet.

Versuchsserie V.

Mit Pepsin-HCl blieb die Verdauung unvollständig. Zwar wurden die Plasmodien sehr brüchig und zerfielen meist in einzelne Stücke, doch waren die Konturen der Pseudopodien meist noch scharf zu sehen.

Bei der Extraktion wurde für gewöhnlich auch der gelbe Farbstoff fast vollkommen entfernt, doch blieben oft einzelne Plasmodien mehr oder weniger braun gefärbt. Diese Braunfärbung ist wohl auf Vorgänge zurückzuführen, die nach dem Tode eintreten, denn tote Plasmodien zeigen immer eine deutliche Verfärbung. Reinke macht gleichfalls darauf aufmerksam, daß das Plastin schwer unzersetzt zu bekommen ist, und es sich leicht bräunlich verfärbt, wobei diese Färbung nach Auswaschen mit Wasser, Alkohol und Äther nicht verloren geht. Er führt diese Vorgänge auf Oxydation zurück; tatsächlich konnte ich beobachten, daß, wenn man ein Plasmahäufchen an der Luft liegen läßt, die äußeren Schichten sich braun färben, während die inneren noch gelb bleiben. Es fragt sich, ob es sich hier nur um eine Veränderung des Farbstoffes handelt. Jedenfalls zeigten solche Plasmodien, die wahrscheinlich schon vor der Behandlung mit Alkohol abgestorben waren, eine viel größere Widerstandsfähigkeit gegen die Enzyme, und wurden auch von Trypsin nach Extraktion nur schwer verdaut. Nach der Behandlung mit Alkohol ging die Verfärbung nicht weiter. Wahrscheinlicher ist es, daß es sich um eine nach dem Tode eintretende Zersetzung der Phospho-Lipoide handelt, die nach Czapek an der

Luft dunkeln. Durch diese Zersetzung könnte die Extraktion unvollkommen sein, und dadurch wäre dann die schwere Verdaulichkeit verständlich. Zum Vergleich des verschiedenen Verhaltens will ich noch eine kurze Tabelle anführen:

Extrahierte (helle und braune) Plasmodien werden in 0,5% Na_2CO_3, 0,3% HCl, Trypsin und Pepsinlösung gelegt und bei 40° C im Thermostaten gehalten:

Nach 24 Stunden:

1. Probe in Na_2CO_3 und HCl nicht merklich verändert.

2. In Trypsin: die hellen Plasmodien gänzlich verdaut, die dunklen teilweise angegriffen.

3. In Pepsin: helle Plasmodien deutlich angegriffen, die dunklen fast unverändert.

Nach 48 Stunden:

1. In Na_2CO_3 und HCl nicht merklich verändert.

2. In Trypsin: auch die braunen Plasmodien zum größten Teil zerfallen und verdaut.

3. In Pepsin: helle Plasmodien in einzelne Stücke zerfallen, Verdauung geht nicht weiter, die dunklen merklich angegriffen.

Stücke aus Na_2CO_3 und die Reste aus dem Pepsin in Trypsin übertragen — vollständige Verdauung. Aus HCl in Pepsin übertragen — teilweise Verdauung.

Wir sehen also, daß sich das Protoplasma der Myxomyceten vollkommen analog dem Plasma der höheren Pflanzen verhält: vor der Extraktion wird es weder von Trypsin noch von Pepsin merklich angegriffen, nach der Extraktion tritt bei Trypsinbehandlung vollkommene Verdauung, bei Pepsin nur teilweise Verdauung ein.

Was für Schlußfolgerungen über die chemische Zusammensetzung des Plasmas lassen sich nun aus diesem Verhalten ziehen:

Da das Myxomycetenplasma sich den Verdauungsenzymen gegenüber ebenso wie das der höheren Pflanzen verhält, was lange nicht für alle Pflanzen zutrifft, so ist die Verallgemeinerung der Resultate, die Reinke bei der Untersuchung des Plasmas von Äthalien des Fuligo varians gewonnen hat, berechtigt.

Reinkes Ergebnisse waren nun folgende:

Das lebende Protoplasma besteht zu $^2/_3$ aus einer abpreßbaren Flüssigkeit, dem Enchylemma von spezifischem Gewicht

1,209 mit einem Eiweißgehalt von 7—8% und zu 1/3 aus fester Gerüstsubstanz. Der größere Teil der letzteren „besteht aus einem der chemischen Zusammensetzung den Eiweißstoffen nahestehender, aber unlöslichen Körper“ — dem Plastin.

Die lufttrockene Substanz macht 28,4% des frischen Protoplasmas aus. Der Ätherextrakt beträgt 5,36—8,13% der lufttrockenen Substanz und besteht aus viel Paracholesterin und wenig Cholesterin (zusammen 21%), Lezithin, flüssigen Fettsäuren (Propionsäure, Buttersäure, Capronsäure, Caprinsäure) und nicht flüchtigen (Ölsäure, Palmitinsäure, Stearinsäure). Aus dem mit Äther erschöpften Plasma konnten mit Alkohol noch Ölsäure, Palmitinsäure, Stearinsäure, ein terpenähnlicher Stoff und ein Weichharz extrahiert werden.

Die Cholesterine, das Lecithin und das Harz scheinen hauptsächlich an die Gerüstsubtanz gebunden zu sein, denn die Extraktion der letzteren allein ergab ebensoviel von diesen Stoffen, wie die entsprechende Menge der lufttrockenen Substanz.

Die meisten Fettsäuren waren nicht als Glyceride sondern frei im Plasma enthalten.

5,13% der lufttrockenen Substanz bestanden außerdem aus fettsauren Calciumsalzen, die nur zum Teil in den Alkoholextrakt übergingen.

Ich habe diese äther- und alkohollöslichen Lipoide so genau angeführt, weil die Verdauungsversuche zeigen, daß ihnen eine große Bedeutung zukommt, indem vor ihrer Entfernung die Eiweißstoffe überhaupt nicht von den proteolytischen Enzymen angegriffen werden.

Wodurch kommt nun diese schützende Wirkung der Lipoide zustande?

Eine einfache Durchtränkung mit Lipoiden kann die Einwirkung der Verdauungsenzyme noch nicht verhindern, wie man aus folgenden Versuchen sieht:

Mit Rüböl, Lecithin und Cholesterinlösungen durchtränktes Fibrin wurde getrocknet, 24 Stunden bei 40° mit Trypsin verdaut und mit entsprechenden nicht vorbehandelten Fibrinproben verglichen. Es zeigte sich kein wesentlicher Unterschied. Alle Proben zeigten die Adamkewicz-Hopkinsche Reaktion, starke Tryptophanreaktion mit Bromwasser, starke Biuretreaktion und nach Einengen Leuzinkugeln und Tyrosindrusen.

Für eine chemische Verbindung der Eiweißstoffe mit Lipoiden trat Lepeschkin ein[1]):

Das Plasma ist gewöhnlich schwerer zum Koagulieren zu bringen als Hühnereiweiß; bei Zusatz von gut wasserlöslichen organischen Stoffen ist die Wirkung auf die Koagulation von Plasma und Hühnereiweiß die gleiche. Ein ganz anderes Verhalten aber beobachten wir bei Zusatz von lipoidlöslichen Stoffen. Es zeigt sich. daß je mehr ein Stoff in Lipoiden und je weniger er in Wasser löslich ist, in desto geringerer Konzentration bringt er das Plasma im Vergleich zum Hühnereiweiß zum Koagulieren. Z. B. für Tradescantia discolor Äther in 3 mal, Chloroform in 7 mal, Benzol in 10 mal und Thymol in 21 mal geringerer Konzentration; für Spirogyra werden die entsprechenden Verhältnisse 3, 10, 17 und 41 sein. Dieses abweichende Verhalten des Plasmas den lipoidlöslichen Stoffen gegenüber erklärt Lepeschkin dadurch, daß er annimmt, daß die Eiweißkomponente des Plasmas mit den Lipoiden in lockerer Verbindung steht. Die lipoidlöslichen Stoffe werden sich nach den Verteilungskoeffizienten in den Lipoiden ansammeln, so daß sie tatsächlich in viel höherer Konzentration auf die Eiweißstoffe einwirken werden und dadurch deren Koagulation hervorrufen können.

Mir scheint es, daß diese Versuche ebenso verständlich sind, wenn man keine chemische, sondern eine Adsorptionsverbindung annimmt. Sowohl Eiweißkörper als auch Lipoide sind Kolloide, also Stoffe, die ein starkes Adsorptionsvermögen zeigen. Eine chemische Verbindung zwischen Eiweißstoffen und Lipoiden ist bis jetzt nicht bekannt. Die aus verschiedenen Geweben gewonnenen Lecithalbumine zeigen eine äußerst stark wechselnde Zusammensetzung und wie A. Mayer gezeigt hat, kann man durch Mischen einer kolloidalen Lecithinlösung mit einer schwach sauren Lösung von Eier- oder Serumalbumin einen Niederschlag erhalten, der in allen Eigenschaften den natürlichen Lecithalbuminen sehr ähnlich ist und als eine komplexe Adsorptionsverbindung aufgefaßt werden muß.

Jedenfalls sind Lipoide im Plasma stets in größeren oder kleineren Mengen vorhanden. Wir können sie deshalb nicht zu

---

[1]) Lepeschkin, Zur Kenntnis der chemischen Zusammensetzung des Plasmamembran (Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch., 29, H. 5).

den Reservestoffen rechnen, sondern müssen sie als zur Konstitution des Plasma gehörig ansehen.

In den meisten Arbeiten wird in der Hauptsache immer nur der Gehalt der Plasmahaut an Lipoiden betont. Um das Zustandekommen einer solchen Lipoidhaut zu erklären, hat Czapek in neuerer Zeit das Gibbs-Thomsonsche Theorem herangezogen, indem er ausführt, daß die oberflächenaktiven Stoffe, zu denen vor allen Dingen die Lipoide gehören, sich in den äußersten Schichten des Plasmas in relativ hoher Konzentration ansammeln müssen. Ohne näher auf die weiteren Schlußfolgerungen, die Oberflächenspannung der Plasmahaut betreffend, einzugehen, will ich nur erwähnen, daß Czapek zu dem Schluß kommt, daß „die Plasmahaut eine konzentrierte Fettemulsion darstellt, welche gleichzeitig für Wasser und hydrophile Stoffe gut durchlässig sein kann"[1]).

Diese Anschauung von Czapek kann uns aber nicht die Schutzwirkung der Lipoide gegenüber den Verdauungsenzymen erklären. Angenommen, die Verdauungsenzyme könnten nicht durch die äußere lipoidreiche Haut in das Innere des Plasmas eindringen, wodurch dieses vor deren Einwirkung geschützt wäre, so ist es doch ausgeschlossen, daß beim Absterben, das immer mit einer Koagulation des Plasmas verbunden ist, diese äußere Haut unversehrt bleibt. Ein Riß in der Haut müßte aber die Schutzwirkung aufheben, und wenigstens einzelne Zellen müßten ihren Inhalt bei der Verdauung verlieren. Daß tatsächlich solche Risse in gewissen Fällen entstehen, davon kann man sich leicht überzeugen. Legt man Elodeablätter in eine ziemlich starke Salzlösung, die Plasmolyse hervorruft, so bleibt die Kontur des Plasmaballens glatt und scharf abgegrenzt. Nach einiger Zeit aber tritt Koagulation ein, wobei sich im Inneren des Plasmaballens zuerst ein farbloser Teil absondert, bis schließlich die Plasmahaut gesprengt und die Flüssigkeit aus der Vakuole herausgestoßen wird. Der Plasmaballen sinkt dabei zusammen und seine Konturen werden weniger scharf und unregelmäßig. Trotzdem werden auch solche Zellen nicht merklich verdaut. Noch einleuchtender sind die Versuche mit Myxomyceten-Plasmodien. Die großen Plasmodien können bei den Versuchen natürlich niemals unversehrt bleiben, dessen ungeachtet tritt keine

[1]) Czapek, Über eine Methode zur direkten Bestimmung der Oberflächenspannung der Plasmahaut von Pflanzenzellen 1911.

merkliche Verdauung vor der Extraktion ein. Wir müssen somit annehmen, daß die Lipoide nicht nur in der Plasmahaut vorhanden sind, sondern daß das ganze Plasma innig von ihnen durchdrungen ist. Dieses muß man schon allein aus dem Umstande schließen, daß die lipoide Plasmahaut eine mikroskopisch nicht nachweisbare Dicke hat, während doch in einer Zelle oft erhebliche Mengen von Lipoiden vorkommen.

Ich glaube deshalb Czapeks Anschauung folgendermaßen erweitern zu müssen. Das Plasma ist nach der jetzigen allgemein angenommenen Anschauung ein Emulsionskolloid. Ein solches Kolloid hat aber nicht nur eine äußere Oberfläche, mit der es ans Außenmedium grenzt, sondern eine viel größere innere Oberfläche, die sich aus den Oberflächen zwischen dem Dispersionsmittel und den einzelnen dispersen Teilchen zusammensetzt. Schon Quincke hat darauf aufmerksam gemacht, daß wässerige Kolloidlösungen die Eigenschaft haben, gleichzeitig zwei Lösungen zu bilden, eine kolloidreiche Lösung A und eine kolloidarme Lösung B, die nebeneinander bestehen und an ihrer gemeinsamen Grenzfläche eine Oberflächenspannung zeigen[1]." Haben wir also im Plasma oberflächenaktive Stoffe, so werden sie sich nicht nur in der äußeren Plasmahaut ansammeln, sondern um jedes Eiweißteilchen wird sich eine ähnliche lipoide Membran bilden, die es vor dem Einwirken der Verdauungsenzyme schützen wird. Da nun die Eiweißkolloide an und für sich auch oberflächenaktiv sind, so können sie sich an der Peripherie des Plasmas ebenfalls in etwas größerer Konzentration ansammeln, da jedoch die Lipoide in viel höherem Grade oberflächenaktiv sind, so werden sie immerhin überwiegen. Wir kommen somit zu der Ansicht, daß, wenn auch die Lipoide sowohl an der Oberfläche als auch im Inneren des Plasmas vorhanden sind, doch eine gewisse Differenzierung der Plasmahaut, wie sie Pfeffer in seiner Arbeit „Untersuchung der Plasmahaut und der Vakuolen" annehmen zu müssen glaubt, bestehen kann. Der Unterschied wird nicht so viel ein qualitativer als ein quantitativer sein, ebenso wird auch der Unterschied in den Permeabilitätsverhältnissen der Plasmahaut und des Innenplasmas sein. Es sei aber gleich bemerkt, daß zwingende Beweise

[1]) Rhumbler, Das Protoplasma als phys. System (Ergebnisse der Physiologie 1914, S. 516).

für die Annahme einer die Permeabilität bestimmenden Plasmahaut kaum vorzubringen sind.

Wir haben uns also die Konstitution des Plasmas schematisch als eine kolloidale Lösung mit mikroskopischen oder ultramikroskopischen Eiweißteilchen vorzustellen. Die Eiweißteilchen, besonders die kleineren (da mit abnehmender Teilchengröße die Oberflächenaktivität zunimmt), werden an der äußeren Oberfläche (Plasmahaut, Vakuolenhäute) dichter liegen, wodurch ein Gelatinieren mit teilweiser Verfestigung (Plasmamembran) stattfinden kann. Außerdem werden um jedes Eiweißteilchen regelmäßig Lipoidteilchen angeordnet sein, wodurch vielleicht eine den chemischen Verbindungen nahestehende Adsorptionsverbindung zustande kommen kann. Eine Ansammlung von Lipoidteilchen muß auch an der äußeren Oberfläche stattfinden. Da die Eigenschaften der äußeren Oberfläche sowohl vom Zustande des Plasmas als auch von dem des Außenmediums abhängen, so wird bei Änderung des ersteren oder des letzteren die Plasmahaut sich gleichfalls verändern. Ebenso muß die Plasmahaut sofort verschwinden, wenn sie ins Innere des Plasmas gelangt und wird sich sofort neu bilden, wenn Teile des Innenplasmas ans Außenmedium grenzen werden. Durch diese äußerst feine Verteilung der Lipoide im Plasma wird es verständlich, daß sie selbst in fettreichen Samen im normalen Zustande mikroskopisch nicht nachweisbar sind (Ölplasma von Tschirch). Setzt man dagegen äußerst stark oberflächenaktive Stoffe hinzu wie Alkohol abs., Chloralhydrat, Amylenhydrat-Pyridin Reagens (nach Czapek), so werden die Lipoide aus den Oberflächen verdrängt und sammeln sich in Form von großen Tropfen im Inneren der Zelle an — es tritt tropfige Entmischung ein. Biedermann und Czapek[1]) zeigten, daß man auf diese Weise bei den verschiedensten Pflanzen und in den verschiedensten Pflanzenteilen Lipoide nachweisen kann. Eine tropfige Entmischung muß ebenfalls eintreten, wenn durch Degeneration des Plasmas die Oberflächen zerstört werden. Auf diese Weise läßt sich das überaus häufige Auftreten der Fetttropfen in Zellen von Gallen, Intumeszenzen, Perldrüsen usw.

---

[1]) W. Biedermann, Mikroskop. Beobacht. an den Blattzellen von Elodea (Flora 1918). Derselbe, Der Lipoidgehalt des Plasmas bei Monotropa hyp. und Orobanche (Flora 113). Czapek, Zum Nachweis von Lipoiden in Pflanzenzellen (Ber. d. deutsch. bot. Ges., 37, S. 207).

erklären, oft bei Pflanzen, bei denen sie sonst nicht vorkommen, wie auch das häufige Auftreten von Fettropfen in alten Glycerin-Gelatinepräparaten.

Ein wesentlich anderes Verhalten den Verdauungsenzymen gegenüber zeigt, wie ich in einer früheren Arbeit nachwies[1]), die Hefe, indem sie bereits in unextrahiertem Zustande verdaut wird. Es ist interessant, daß nach Kisch die Oberflächenspannung der Plasmahaut gerade bei den Hefen um vieles geringer ist als bei den anderen Pflanzen. Czapek folgert daraus, daß bei der Hefe aller Wahrscheinlichkeit nach nicht Neutralfette die äußere Plasmahaut bilden, sondern Lecithine und Cholesterine, deren maximale Oberflächenspannungserniedrigung bedeutend größer ist. Vielleicht stehen diese beiden Beobachtungen in ursächlichem Zusammenhang. Das Neutralfett müßte sich in diesem Falle, wie es auch tatsächlich zutrifft, in Form von Fettropfen im Inneren des Plasmas ansammeln. Es zeigt sich nun, daß diese Fettropfen vor der Verdauung nicht extrahierbar sind und diese wie auch andere Beobachtungen machen es wahrscheinlich, daß ein Eiweißhäutchen um die Fettropfen vorhanden zu sein scheint. Die Bildung von solchen Schutzhäutchen um suspendierte Teilchen ist bei den Kolloiden eine sehr häufige Erscheinung. Man kann solche Häutchen um emulgierte Fettröpfchen künstlich herstellen, indem man zu einer Fettemulsion etwas Seifenlösung (Seifenhäutchen) oder auch Eiweißlösung zusetzt.

Wenden wir uns nun der anderen Komponente des Plasmas, den Eiweißstoffen zu. Wie bereits erwähnt, hat Reinke gefunden, daß der größere Teil des Protoplasmas aus einem den Eiweißstoffen nahestehenden Körper, dem Plastin besteht. Von den gewöhnlichen Eiweißstoffen weicht es durch seinen geringen Stickstoffgehalt (12%) und den Gehalt an Phosphor (2,15%) ab. Der Schwefelgehalt wurde zu 0,33% bestimmt. Reinke nimmt an, daß es sich um einen an eine organische Verbindung gebundenen Eiweißstoff handelt.

Der Begriff des Plastins ist in letzter Zeit stark angegriffen worden. Man wies darauf hin, daß es kein einheitlicher Körper sei, ja man bezweifelte selbst seine Eiweißnatur. So sagt z. B. Arthur Meyer in seiner kürzlich erschienenen Analyse der Zelle: „Das

[1]) H. Walter l. c.

Wort Plastin sagt also gar nichts über die chemische Zusammensetzung der betreffenden Gebilde aus, ist ganz gleichwertig mit Verdauungsrest und der Schluß, daß die Verdauungsreste Nucleo- oder Phosphorproteide sind, ist gewagt [1])." Ich glaube, daß, nachdem gezeigt worden ist, daß mit Trypsin eine vollkommene Verdauung stattfindet, an der Eiweißnatur des Plastins nicht mehr gezweifelt werden kann. Dagegen läßt sich bei der überaus großen Unsicherheit, die heutzutage leider noch immer auf dem Gebiete der Eiweißchemie herrscht, nicht viel Genaueres sagen. Interessant ist es, daß das Plastin nur vom Trypsin restlos verdaut wird, bei Pepsin-HCl-Einwirkung dagegen immer ein deutlicher Rest nachbleibt.

Vergleicht man die bekannten Eiweißstoffe in bezug auf ihr Verhalten dem Pepsin und Trypsin gegenüber, so sind es gerade die Nucleo- und Phosphorproteide, die ein gleiches Verhalten zeigen wie das Plastin. Durch Trypsin werden beide vollkommen abgebaut, bei Pepsin-HCl-Einwirkung dagegen wird bei ersterem ein Teil der Eiweißstoffe abgespalten, der Rest, das sog. Nuclein, scheidet sich aber aus. Auch bei den Phosphorproteiden bleibt ein unlöslicher phosphorhaltiger Komplex zurück. Vergleicht man auch die anderen Reaktionen und den Gehalt an P und S, so kann man sagen, daß von den bisher bekannten Eiweißstoffen, das Plastin den Nucleoproteiden und insbesondere den Phosphorproteiden am nächsten steht, wenn es auch kein einheitlicher Körper zu sein braucht.

Die einfachen Eiweißkörper oder die Eiweißkörper im engeren Sinne dagegen kann man nicht als zur Konstitution des Plasmas gehörig ansehen, denn sie fehlen dem lebenden Plasma meist vollkommen. Nur nach Behandlung mit starken Säuren oder Alkalien oder durch hohe Temperaturen kann man eiweißartige Substanzen abscheiden. Näheres findet man in den Arbeiten von Winterstein und Ruppel, sowie in den Zusammenstellungen bei Zacharias und Arthur Meyer [2]). Auch in den Fällen, wo

[1]) A. Meyer, Morphol. u. physiol. Analyse der Zelle I. 1920. S. 500.

[2]) A. Meyer l. c. Zacharias, Die chem. Beschaffenh. von Protoplasma und Zellkern (Progressus rei bot. 3). Ruppel, Zur Chemie der Tuberkelbazillen (Zeitschr. f. phys. Chemie 1898/99). Winterstein, Über N-haltige Bestandteile grüner Blätter (Ber. d. deutsch. bot. Ges. 1901). Derselbe, Über N-haltige Stoffe der Pilze (Zeitschr. f. phys. Chemie 26. 1898/99).

einfache Eiweißkörper im Plasma vorhanden sind, hat man sie als Reservestoffe oder wenigstens als Plasmaprodukte aufzufassen.

Wir kommen somit zu folgenden Ergebnissen:

1. Das Plasma von Myxomyceten verhält sich den Verdauungsenzymen gegenüber nicht anders als das der höheren Pflanzen: vor der Extraktion bleiben sowohl Pepsin als auch Trypsin unwirksam, nach Extraktion mit Alkohol abs., Äther und Chloroform tritt bei Pepsin-HCl-Behandlung nur teilweise, mit Trypsin dagegen völlige Verdauung ein.

2. Aus dem gleichen Verhalten den Verdauungsenzymen gegenüber, kann man auf eine ähnliche chemische Konstitution schließen.

3. Das Plasma besteht aus einer durch Trypsin verdaubaren Eiweißkomponente, dem Plastin, das den Phosphorproteiden nahe zu stehen scheint, und einer die Einwirkung der Verdauungsenzyme verhindernden Lipoidkomponente.

4. Die Lipoide befinden sich im ganzen Plasma in äußerst fein verteiltem Zustande, nur nach tropfiger Entmischung werden sie sichtbar. Da es kein Plasma zu geben scheint, dem sie vollkommen fehlen, so wird man sie als zur Konstitution des Plasmas gehörig ansehen müssen.

5. Einfache Eiweißkörper fehlen dem Plasma oder sind als Reservestoffe aufzufassen.

Die Bedeutung der Hämoglobin-Aminosäuren für die Züchtung der Influenzabacillen.

Von

Martin Jacoby und **Käte Frankenthal.**

(Aus dem Biochemischen Laboratorium des Krankenhauses Moabit in Berlin.)

(Eingegangen am 17. Juni 1921.)

Die Lehre von den Vitaminen hat sich immer mehr in der Richtung entwickelt, daß die Nahrung der Organismen außer den Hauptbestandteilen von calorischem Wert noch besondere Stcffe enthalten muß, die für die Bildung von Zellbestandteilen mit Sonderfunktion notwendig sind.

Zu Vitaminstudien sind Bakterien sehr geeignet, weil bei ihnen durch die Möglichkeit, zahlreiche, gleichmäßige Versuche anzustellen, und durch die schnelle Entscheidung des einzelnen Experimentes eine vereinfachte Methodik gegeben ist. Dieses Vorgehen hat sich beim Studium der Rolle des Leucins für die Ureasebildung durch Proteusbacillen bewährt[1]). Durch v. Eisler[2]) wurde die Wirksamkeit des Leucins auch für die Toxinbildung von Bakterien festgestellt. Diese interessante Bestätigung spricht dafür, daß hier ein Prinzip von allgemeiner Geltung aufgedeckt worden ist.

Es war also der Untersuchung wert, ob vielleicht einzelne Aminosäuren entscheidend für die Entwicklung von bestimmten Bakterien sind. Der Influenzabacillus konnte bedeutsam für diese Frage sein, da er ganz besondere Ansprüche an den Nährboden stellt, indem er nur auf hämoglobinhaltigem Nährboden wächst. Das Hämoglobin ist in seiner Konstitution soweit bekannt, daß man prüfen kann, auf welcher seiner Komponenten seine Wirk-

[1]) Jacoby, Über Fermentbildung, III. Diese Zeitschr. **81**, 332. 1917.

[2]) Zentralbl. f. Bakteriol. **83**, 353. 1919.

samkeit beruht. Es lag nahe, sein Hauptaugenmerk auf die Stoffe zu richten, die vorwiegend im Hämoglobin vorkommen. Ein solcher Stoff ist im Histidin gegeben. Abderhalden[1]) fand den Histidingehalt des Pferdehämoglobins zu 10,96%, während in den anderen Eiweißkörpern der höheren Tiere das Histidin fehlt oder nur in geringer Menge vorhanden ist.

Daß der Influenzabacillus nur auf bluthaltigem Nährboden gedeiht, ist zuerst von dem Entdecker des Bacillus Pfeiffer[2]) festgestellt worden. Pfeiffer untersuchte auch bereits, welcher Teil des Blutes dabei das wirksame Prinzip darstellt. Als allein wirksam fand er das Hämoglobin, während auf reinem Serum kein Wachstum zu erzielen war. Eine Zerlegung des Hämoglobins nahm Pfeiffer nicht vor, sondern er untersuchte nur, ob die Wirksamkeit auf der sauerstoffübertragenden Eigenschaft beruht. Die Untersuchung zeigte, daß das Kohlenoxyd-Hämoglobin ebenso wirksam ist wie das Sauerstoff-Hämoglobin. Pfeiffer schloß daraus, daß das Eisen wahrscheinlich der für den Influenzabacillus lebenswichtige Faktor ist. Auf Eisenalbuminat konnte er jedoch kein Wachstum von Influenzabacillen erzielen.

Grassberger[3]) fand zuerst, daß das Wachstum der Influenzabacillen durch andere Bakterien besonders durch den Staphylococcus pyogenes aureus gefördert werden kann.

Ghon und Preyss[4]) beobachteten Influenzawachstum sowohl auf Nährboden, der Hämatin enthielt, als auch auf solchem, dem frisch gefälltes Eisenhydroxyd, in Blausäure gelöst, zugesetzt war; in beiden Fällen jedoch nur in der Umgebung von gleichzeitig ausgesäten Hilfsbakterien. Sie schließen, daß der lebenswichtige Faktor der Teil des Blutes ist, der Eisen in leicht abspaltbarer Form enthält. Eine Zerlegung des Hämoglobins nahmen auch sie nicht vor.

In neuerer Zeit haben sich die französischen Forscher Legouse und Menard[5]) mit der Biologie des Influenzabacillus beschäftigt. Es gelang ihnen sowohl aus frischen Erythrocyten wie aus solchen, die mit Alkohol gefällt und getrocknet waren, bei 80° eine Fraktion zu extrahieren, die anstatt Hämoglobin geeignet ist, Peptonbouillon zu einem guten Influenzanährboden zu gestalten.

Ferner ist die Arbeit von Wolf[6]) zu erwähnen, der ohne Hämoglobinzusatz, nur durch die fördernde Wirkung bei 60° abgetöteter Hilfsbakterien Influenzawachstum auf Agar bekam.

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie **37**, 484. 1903.

[2]) Pfeiffer, Die Ätiologie der Influenza. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **13**, 356.

[3]) Zentralbl. f. Bakteriol. **23**.

[4]) Zentralbl. f. Bakteriol. **35**.

[5]) Cpt. rend. hebdom. des séances de l'acad. des sciences **170**, 901. 1920.

[6]) Zentralbl. f. Bakteriol. **84**.

Olsen[1]) fand einen Parallelismus zwischen der Benzidinreaktion von Blutderivaten, die nur bei eisenhaltigen Derivaten vorhanden und ihrer Eignung für das Influenzawachstum. Spektroskopisch wies er nach, daß Influenzabacillen Oxyhämoglobin zu Hämoglobin reduzieren. Im Gegensatz zu Pfeiffer nimmt er an, daß die katalytische Wirkung des Hämoglobins das Wesentliche für das Influenzawachstum ist.

Schließlich erschien noch, während unsere Versuche im Gange waren, eine Mitteilung von Tocunaga[2]), der Influenzawachstum auf eisenfreiem Globinagar fand.

Für unsere Versuche benutzten wir einen Influenzastamm, den uns Herr Dr. Lewinthal zur Verfügung gestellt hatte. Für seine Freundlichkeit sagen wir ihm auch an dieser Stelle besten Dank. Die Fortzüchtung geschah auf dem Lewinthalschen Nährboden, auf dem der Influenzabacillus stets üppig wächst. Um die Reinheit unserer Kulturen fortlaufend zu kontrollieren, wurde bei jeder Überimpfung auf ein Lewinthalröhrchen auch ein Agarröhrchen geimpft. Auf diesen Röhrchen wurde niemals Wachstum beobachtet. Frau Professor Rabinowitsch hatte auf unsere Bitte die Liebenswürdigkeit, unsere Kulturen fortlaufend zu besichtigen. Sie hat uns die Reinheit unserer Kulturen bestätigt. Auch ihr danken wir bestens für ihre Bemühung.

In den ersten orientierenden Versuchen überzeugten wir uns davon, daß auf Agar mit Zusatz von reinem Serum kein Influenzawachstum nachweisbar war, während auf Hämoglobin- und Blutagar stets üppiges Wachstum stattfand. Dabei war es eine große technische Erleichterung, daß sich das käufliche, Mercksche Hämoglobin in gleicher Weise wirksam erwies wie das aus frischem Blut dargestellte.

Wir wandten uns nun der Frage zu, welcher Bestandteil des Hämoglobins als wirksames Prinzip anzusprechen ist. In Bestätigung der Angaben von Legouse und Menard fanden wir, daß auf dem bei 80° erhaltenen Kochsalzextrakt von Erythrocyten mit Bouillon ein Wachstum zu erzielen ist, wenn auch weit schwächer als auf Blutnährboden.

Alsdann gingen wir zu Spaltungsversuchen des Hämoglobins über und prüften zunächst im Hinblick auf die Angaben Tocunagas die Wirksamkeit des Globins, also des eisenfreien Eiweißbestandteiles des Blutfarbstoffes. Bei der Herstellung des Globins

---

[1]) Zentralbl. f. Bakteriol. 85.

[2]) Dtsch. med. Wochenschr. 1920, Nr. 49.

folgten wir möglichst genau den Angaben Tocunagas, konnten aber mit dem erhaltenen Präparat in wiederholten Versuchen niemals Influenzawachstum erzielen. Auch ein Globinpräparat, das wir nach der Methode von Schulz[1]) darstellten, erwies sich als durchaus unwirksam. Dagegen erfolgte auf dem von Tocunaga für praktische Zwecke angegebenen Nährboden, der das gesamte Blut in aufgespaltener Form enthält, gutes Influenzawachstum.

Schließlich untersuchten wir noch die eisenhaltige Komponente des Hämoglobins, das Hämatin, das wir nach der Methode von Zeynek[2]) darstellten. Auf dem mit diesem Hämatin beschickten Agar konnten wir in Übereinstimmung mit zahlreichen früheren Autoren ohne Hilfsbakterien kein Influenzawachstum erzielen.

Obwohl das Globin in unseren Versuchen versagt hatte, waren wir uns doch darüber klar, daß trotzdem die Spaltprodukte wirksam sein könnten, weil ja die Angreifbarkeit durch Bakterien oft von scheinbar unbedeutenden Momenten abhängt. Zunächst richteten wir unsere Aufmerksamkeit auf das Histidin, das, wie erwähnt, im Hämoglobin in erheblicher Menge vorkommt, während es sonst im Organismus der höheren Tiere nur spärlich vertreten ist. Wir verzichteten darauf, es selbst aus dem Hämoglobin zu isolieren, da uns ein reines, käufliches Präparat zur Verfügung stand. Wir verwendeten Histidinhydrochlorid in 1 proz. wässeriger Lösung in der Menge von 1—2 ccm auf 10 ccm Agar. Das Histidin-Agargemisch wurde kurz aufgekocht und die Röhrchen dann schräg erstarrt. Auf diesem Nährboden konnte in zahlreichen Versuchen ein deutliches Wachstum von Influenzabacillen erzielt werden und zwar wurden die Kulturen durch 3 Generationen fortgezüchtet. Dann wurden die Versuche abgebrochen. Bei jeder Überimpfung von Histidinagar auf Histidinagar wurde gleichzeitig auf Lewinthalnährboden und auf gewöhnlichen Agar überimpft. Jedesmal ergab sich Wachstum auf Lewinthalnährboden und zwar erheblich üppiger als auf Histidin, während das Agarröhrchen vollkommen steril blieb. Das mikroskopische Bild zeigte das typische Bild des Influenzabacillus.

Ein zweiter, interessierender Baustein ist das Leucin, das

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie 24. 1898.
[2]) Zeitschr. f. physiol. Chemie 30. 1900.

zu 30% im Hämoglobin vertreten ist. Wir benutzten eine 3 proz. Lösung von Leucin, das aus Eiweiß dargestellt war (Kahlbaum). Es löste sich in der Wärme klar. Wir nahmen, wie beim Histidin, 1—2 ccm auf 10 ccm Agar. Auch auf diesem Leucinagar erfolgte typisches Influenzawachstum, wenn auch spärlicher als auf Histidin. Die Kulturen wurden ebenfalls durch 3 Generationen fortgezüchtet, waren auf Lewinthalagar, aber nicht auf Agar übertragbar.

Auf einem Gemisch von Histidin und Leucin im Verhältnis 1 : 3, das also den Mengenverhältnissen im Hämoglobin angenähert ist, gelang die Züchtung in gleicher Weise wie auf Histidin allein. Ein verstärktes Wachstum gegenüber den Histidinkulturen trat nicht auf. Ebenso war weder auf dem Histidin — noch auf dem Leucinnährboden eine Wachstumsbegünstigung bei Zusatz von Hämatin oder von kolloidem Eisen vorhanden.

Unsere Untersuchungen ergeben also, daß im Influenzanährboden das Hämoglobin durch die Aminosäuren, welche in seinem Eiweißanteil quantitativ in erster Linie vorkommen, vertretbar ist. Keineswegs soll aber behauptet werden, daß damit nun alle das Influenzawachstum begünstigenden Eigenschaften des Hämoglobins erschöpft sind. Wichtig ist aber, daß wir jedenfalls im Histidin und im Eiweißleucin Aminosäuren besitzen, welche ausreichen, um den Agarnährboden zu einem Influenzanährboden auszugestalten.

Diese Feststellung hat aber ein Interesse, welches weit über das begrenzte Gebiet des Bakterienwachstums hinausgeht. Wir sehen den Fortschritt auf dem Vitamingebiet in Befunden, welche in eine Reihe mit der grundlegenden Entdeckung von Hopkins über die Bedeutung des Tryptophans für die tierische Ernährung gestellt werden können. Einen ersten Schritt bedeutete die Aufklärung der Rolle des Leucins für die Ureasebildung der Proteusbakterien, einen weiteren die Wichtigkeit der Anwesenheit des Histidins oder des Leucins für die Entwicklung der Influenzabacillen. Geht man auf diesen Wegen weiter, so wird das noch unbekannte Gebiet allmählich so eingeengt werden, daß die verschiedenen Forschungsrichtungen sich bald auf gemeinsamen Treffpunkte werden vereinigen können.

Über Agglutination und Senkungsgeschwindigkeit der Erythrocyten.

II. Mitteilung.

Von

Wilhelm Starlinger.

(Aus der II. Medizinischen Universitätsklinik in Wien.)

(Eingegangen am 18. Juni 1921.)

In einer vorausgehenden Mitteilung[1]) konnte ich zeigen, daß das Phänomen der Autoagglutination der Erythrocyten, gemessen durch die Geschwindigkeit ihrer Senkung, hauptsächlich von den Eiweißkörpern des Blutplasmas abzuhängen scheint, indem einerseits ein hoher Gehalt an Fibrinogen, der gröbstdispersen Fraktion desselben, durch Förderung der Agglutination die Senkung beschleunigt, während andererseits eiweißspaltende Vorgänge, die eine Anreicherung der Eiweißabbauprodukte bewirken, durch Hemmung der Agglutination eine Verlangsamung der Senkung zur Folge haben. Zur Deutung dieser Versuche wurde in Anlehnung an die Herzfeld-Klingersche Theorie[2]), derzufolge eine Agglutination erst eintreten kann, wenn die „Wasserbenetzbarkeit" der suspendierten Teilchen, die durch Adsorption von wasserlöslichen Polypeptiden und Lipoidspaltstücken geschaffen wird, eine Störung erleidet, die Ansicht vertreten, daß ein hoher Gehalt des Plasmas an Fibrinogen zur eigenen Stabilisierung einen großen Teil der vorhandenen wasserlöslichen Abbauprodukte an sich reißt, wodurch eine Verarmung der Erythrocytenoberflächen mit konsekutiver Steigerung der Agglutinationstendenz und Senkungsgeschwindigkeit eintritt, während eine Vermehrung der Abbauprodukte durch Adsorption an die Erythrocyten eine Erhöhung der Wasserbenetzbarkeit und damit der Suspensionsfähigkeit mit sich bringt.

Damit waren, nachdem Fahräus[3]) und Linzenmeier[4]) bis dahin vorwiegend die elektro-physikalische Komponente des Vorganges experimentell berücksichtigt hatten, nun auch Anhaltspunkte für die Beurteilung der chemischen Komponente gegeben und dadurch neuerlich Beweise für

---

[1]) W. Starlinger, diese Zeitschr. **114**. 1921.

[2]) Herzfeld und Klinger, diese Zeitschr. **83**. 1917; **87**. 1918.

[3]) Fahräus, diese Zeitschr. **89**. 1918.

[4]) Linzenmeier, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **181**. 1920.

die kolloid-chemische Natur des Agglutinationsphänomens erbracht, worauf als erster schon Landsteiner[1]) hingewiesen hatte, als er auf die wahrscheinliche Analogie der Vorgänge, die sich bei der Ausflockung anorganischer Kolloide und bei der Hämagglutination abspielen, aufmerksam gemacht hatte. Inzwischen sind auch Fahräus[2]) und Linzenmeier[3]) noch vor Kenntnis unserer Versuche zu ähnlichen experimentellen Resultaten gekommen, denen sie allerdings eine andere Deutung zugrunde legen, worauf im weiteren noch zurückzukommen sein wird.

Im folgenden seien nun Versuche mitgeteilt, die geeignet erscheinen, das Wesen des Einflusses der Eiweißkörper weiter zu klären. Auf die Wirkungsweise der Lipoide kann in dieser Mitteilung noch nicht eingegangen werden und sollen diesbezügliche Untersuchungen einer späteren Veröffentlichung vorbehalten bleiben.

Nachdem einerseits sowohl Fahräus (l. c.) als auch Linzenmeier (l. c.) den Einfluß des Fibrinogens auf die Verklumpung und Senkung der roten Blutkörperchen erkannt haben, welches Ergebnis durch Untersuchungen von Sachs und Öttingen[4]) weitere Bestätigung fand, andererseits aber Linzenmeier und Sachs und Öttingen die quantitative Bedeutung der Fibrinogenfraktion gegenüber ihrer qualitativen vernachlässigen zu können glauben, während ich den primären Einfluß der Menge des Fibrinogens nachweisen konnte, erscheint vor allem eine Klarstellung nach der Hinsicht wichtig, ob die Menge oder der Stabilitätszustand des Fibrinogens von ausschlaggebender Bedeutung ist.

Fahräus fand, daß die Größe der Globulinfraktion des Plasmas, die als wichtigsten Bestandteil das Fibrinogen enthält, mit Agglutination und Senkung parallel geht, ein Ergebnis, das wohl mehr im Sinne der quantitativen Auffassung verwertbar zu sein scheint. Linzenmeier dagegen konnte durch verschiedene Einwirkungen physikalischer Natur erhebliche Änderungen der Agglutination durch die veränderte Senkung der roten Blutkörperchen nachweisen, wofür er in Anlehnung an die bekannten chemisch-physikalischen serologischen Arbeiten von Sachs und seiner Schule[5]) eine Änderung im Dispersitätszustande des Fibrinogens verantwortlich machte. Sachs und Öttingen schließlich konnten feststellen, daß bei Schwangeren-, Normal- und Nabelschnurplasma merkwürdige

---

[1]) Landsteiner, Münch. med. Wochenschr. 1903. 1904.

[2]) Fahräus, Vortrag auf der Tagung der deutschen physiologischen Gesellschaft in Hamburg 1920; zit. Ber. d. ges. Physiol. 2. 1920.

[3]) Linzenmeier, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 186. 1921.

[4]) Sachs und Öttingen, Münch. med. Wochenschr. 12. 1921.

[5]) Sachs, Kolloid-Zeitschr. 24. 1919.

Differenzen im Ausfall verschiedener Flockungsreaktionen des Fibrinogens auftreten, die zur Senkung der Erythrocyten in dem Sinne koordiniert sind, daß das Plasma des schnell sedimentierenden Schwangerenblutes starke Flockung zeigt, das Plasma des langsam sedimentierenden Nabelschnurblutes höchstens eine feinste Trübung erkennen läßt, während die im Plasma des hinsichtlich seiner Senkungstendenz die Mitte haltenden Normalblutes auftretende Reaktion den Übergang bildet. Die Ursache sollte ausschließlich im differenten Stabilitätszustande des Fibrinogens liegen.

Obwohl nun kein Zweifel darüber bestehen kann, daß der chemisch-physikalische Zustand des Fibrinogens für den Ablauf von Reaktionen, die es mittel- oder unmittelbar beeinflußt, von nicht zu unterschätzender Bedeutung ist, so darf man doch keinesfalls seine Quantität darüber vernachlässigen. Darauf weist ja schon die einfache Erwägung hin, daß in einem Plasma, in dem Fibrinogen nur in kleinsten Mengen vorhanden ist, kaum jene Zahl und Größe der Flocken zu beobachten sein wird, wie in einem anderen, fibrinogenreichen, eine Erwägung, die ihre experimentelle Stütze ja schon in den geschilderten Versuchen von Sachs und Öttingen selbst findet, da das Schwangerenplasma einen hohen, das Normalplasma einen niedrigen Gehalt an Fibrinogen besitzt, während das Nabelschnurplasma dieses fast vollkommen entbehrt. Ich selbst konnte in zahlreichen Versuchen, über die demnächst berichtet werden soll, einen ausgesprochenen Parallelismus zwischen Menge des Fibrinogens und Intensität der Flockungsreaktionen beobachten und ebenso auch ein entsprechendes Schwächerwerden der Ausflockung bei künstlicher stufenweiser Verringerung des Fibrinogens nachweisen. Es scheint also danach wohl angängig zu sein, die Ansicht von der ausschlaggebenden Bedeutung der Menge des Fibrinogens für Reaktionen, die durch dasselbe in hohem Maße beeinflußt werden, in unserem Falle für das Hämagglutinations- und Flockungsphänomen, ausdrücklich zu vertreten. Daß daneben der physikalisch-chemische Zustand eine große Rolle spielt, gerade was die hier zu behandelten Stabilisationsvorgänge anlangt, ist auch vom Standpunkte der hier vertretenen Theorie ohne weiteres verständlich, wenn man bedenkt, daß das Fibrinogen, je weniger stabilisiert es ist, um so mehr Abbauprodukte an sich ziehen wird.

Nachdem sich also die übereinstimmenden Befunde aller Autoren ungezwungen für die Auffassung verwerten lassen, daß

das Fibrinogen als der im Blute ausschlaggebenste Faktor für die Autoagglutination der Erythrocyten anzusehen ist, schien es naheliegend, zu untersuchen, auf welche Weise Stoffe, die beim Zusatz zum Blut Agglutination und Senkung ändern, den normalen Ablauf des Vorganges zu beeinträchtigen vermögen.

Schon Linzenmeier (l. c.) hat zu dieser Frage Stellung genommen und eine Reihe von Stoffen ausfindig gemacht, die Agglutination und Senkung teils fördern teils hemmen; die Deutung, die anfangs rein elektrisch-physikalisch im Sinne einer Entladung der negativ elektrischen Erythrocyten bei der Förderung und einer Aufladung bei der Hemmung gegeben wurde, erlitt später eine Modifikation in der Richtung, daß neben der direkten Ent- oder Aufladung auch eine Art „Sensibilisierung" der Erythrocyten im Sinne eines erleichterten Angreifens anderer senkungsbeeinflussender Faktoren ohne unmittelbare Ladungsänderung bewirkt würde, während schließlich eine weitere Gruppe von Substanzen weder eine Ladungsänderung herbeiführen, noch eine sensibilisierende Wirkung erkennen lassen, trotzdem aber deutlichen Einfluß auf Agglutination und Senkung nehmen.

Die elektrisch-physikalische Auffassung kann demnach nicht mehr als Grundlage eines einheitlichen Erklärungsversuches anerkannt werden, was auch nicht wundernimmt, wenn man bedenkt, daß nicht alle Flockungsreaktionen von nachweisbaren elektrischen Umladungen begleitet sein müssen.

Ich ging daher daran, verschiedene agglutinationsändernde Stoffe gemäß den eingangs gegebenen Ausführungen in der Richtung einer experimentellen Prüfung zu unterziehen, ob etwa die der Senkungsänderung entsprechende Störung im Mechanismus des Ablaufes durch Änderungen im Verhalten der Eiweißkörper des Blutes nachzuweisen wäre.

Vorausgeschickt sei, daß sich meine Beobachtungen hinsichtlich des Einflusses der erwähnten Stoffe mit denen Linzenmeiers fast vollkommen decken: Ich konnte auf Zusatz von Kaolin, Bolus alba, Tierkohle zum Blut stets eine Hemmung der Agglutination durch die Verlangsamung der Senkung, auf Zusatz von Agar-Agar, Gummi acaciae, Gelatine eine gesteigerte Agglutination durch die Beschleunigung der Senkung ebenso wie auch im Mikroskop nachweisen. Nur hinsichtlich der Wirkung der Stärke kam ich insofern zu einem anderen Ergebnis, als ich sie als fast indifferentes Agens erkennen mußte, während Linzenmeier eine Senkungsbeschleunigung beobachtete.

Zur Methodik im allgemeinen möchte ich nur kurz bemerken, daß der Zusatz erst vor der zweiten Sedimentierung des wieder aufgeschüttelten Blutes vorgenommen wurde, nachdem die erste einen gleichmäßigen Ablauf der Senkung in allen Proben hatte erkennen lassen, eine Vorsichtsmaßregel,

die meines Erachtens nie außer acht gelassen werden sollte, da es nicht selten vorkommt, daß trotz Einhaltung gleicher Kautelen sich das Blut in einem Gläschen ganz verschieden verhält wie in dem anderen, was man dann als durch den Zusatz bedingt anzusehen geneigt sein könnte. Nach Beendigung der zweiten Sedimentierung kamen dann die Untersuchungen des abzentrifugierten und abpipettierten Plasmas zur Durchführung. Betonen möchte ich ferner noch in diesem Zusammenhange, daß bei Notwendigkeit exakter Vergleichsuntersuchungen, wie zum Beispiel in vorliegender Arbeit, es erforderlich erscheint, die Ablesung nach fixen Senkungsstrecken und nicht nach fixen Senkungszeiten vorzunehmen, mag auch das letztere Prinzip, das wegen seiner größeren Bequemlichkeit vorzuziehen ist, für grob klinische Zwecke genügen. Unter Senkungsmittelwert (SMW), der aus vergleichstechnischen Gründen eingeführt sei, verstehe ich das arithmetische Mittel aus den 3 Senkungswerten für 6, 12, 18 mm.

Haben nun Kaolin, Bolus alba oder Tierkohle bei Zusatz zum Blut eine Hemmung der Agglutination zur Folge, so war es entsprechend der geschilderten Einflußnahme des Fibrinogens zu erwarten, daß diese Stoffe letzteres durch Adsorption teilweise entfernen. Bei Richtigkeit der Annahme mußte sich diese Verringerung des Fibrinogens sowohl in einer Herabsetzung des Brechungsindex als auch in einer verminderten Flockung des Plasmas nach der zweiten Sedimentierung ausdrücken. Das ist auch tatsächlich der Fall, wofür folgender Versuch als Beleg dienen soll.

Methodik: Vor der zweiten Sedimentierung werden 0,02 ccm Plasma durch die gleiche Menge pulverisierten Kaolins, Bolus alba, Tierkohle ersetzt, nun die Röhrchen durch 20maliges Wenden wieder aufgeschüttelt und das nach erfolgter zweiter Sedimentierung abzentrifugierte und abpipettierte Plasma teils zur Bestimmung des Brechungsvermögens (Pulffrichsches Eintauchrefraktometer), teils zur Anstellung der Flockungsreaktionen verwendet (0,2 Plasma + 0,2 ges. NaCl-Lösung oder 0,35 Plasma + 0,15 halbges. $(NH_4)_2SO_4$-Lösung oder Erwärmen auf 55° C für 5 Minuten).

Was die sonstigen Einzelheiten der Technik und ferner das Verhältnis der zweiten zur ersten Sedimentierung betrifft, muß auf die erste Mitteilung (l. c.) verwiesen werden.

Wir sehen also, daß Kaolin, Bolus alba, Tierkohle nicht nur bei einem der Sedimentierung vorausgehenden Ausschütteln des Plasmas, wie in den Versuchen Linzenmeiers, sondern auch bei unmittelbarem Zusatz zum Blut einen ausgesprochen hemmenden Einfluß erkennen lassen. Untersucht man das Plasma nach der 2. Senkung auf sein Brechungsvermögen, so erweist sich dieses um so mehr herabgesetzt, je größer die Senkungsverzögerung in

Tabelle I.

Proben Nr.	I. Sedimentierung					II. Sedimentierung nach 12h					Brech-Index des Plasmas	Flockung 0,02 Plasma 0,02 ges. NaCl-Lös.
	Versuchsanordnung	Sed. Zeit in Min. 6 mm	12 mm	18 mm	SMW	Versuchsanordnung	Sed. Zeit in Min. 6 mm	12 mm	18 mm	SMW		
1	0,2 5% Na·citr. 0,8 Blut	18	33	53	35	wie bei der I. Sediment.	22	44	74	47	68,5	+++
2	desgl.	18	33	54	35	0,02 Plasma ersetzt durch 0,02 pulver. Kaolin	33	68	125	75	67,1	+
3	desgl.	18	33	53	35	0,02 Plasma ersetzt durch 0,02 pulver. Bolus	32	65	120	72	67,3	+
4	desgl.	18	31	52	34	0,02 Plasma ersetzt durch 0,02 pulver. Kohle	28	53	97	59	67,7	++

Erscheinung getreten war. Es müssen also Bestandteile des Plasmas durch Adsorption an die erwähnten Stoffe beim Auszentrifugieren derselben mitentfernt worden sein. Daß es sich dabei um Eiweißkörper handeln muß, erscheint durch die Tatsache erwiesen, daß der Brechungsindex des Blutplasmas fast nur durch seinen Gehalt an Eiweiß bedingt wird, daß es sich um das Fibrinogen im besonderen handeln muß, geht aus dem Ausfall der Flockungsreaktion hervor, die wieder eine der Senkungshemmung parallelgehende Abschwächung erfährt. Man muß also wohl annehmen, daß Kaolin, Bolus alba und Tierkohle ihre Agglutinations- und senkungshemmende Wirksamkeit dadurch entfalten, daß sie einen großen Teil des Fibrinogens adsorbieren. Den weiteren Ablauf des Mechanismus müßte man sich der hier vertretenen Auffassung gemäß dann in der Weise vorstellen, daß durch die Adsorption des Fibrinogens wasserlösliche Eiweißabbauprodukte in großer Zahl frei werden, die dann der Stabilisierung der roten Blutkörperchen zugute kommen.

Daß die Einflußnahme der zur Prüfung stehenden Substanzen auf den Agglutinationsvorgang mittelbar über das Fibrinogen erfolgt, geht auch daraus hervor, daß diese Stoffe im defibrinierten Blut eine ungleich schwächere Wirkung entfalten; daß

sie überhaupt noch eine erkennbare Hemmung zur Folge haben, ist wohl dadurch zu erklären, daß sie durch Adsorption der hochmolekularen Eiweißkörper des Serums, also vorwiegend der Globuline, einen dem durch die Fibrinogenadsorption bedingten analogen, nur entsprechend verminderten Erfolg erzielen können.

Methodik: Vom entnommenen Blut wurde ein Teil in der üblichen Weise sofort, der andere erst nach Defibrinieren mittels Glasstabes zum Natriumcitrat in die Röhrchen gefüllt; vor der zweiten Sedimentierung wurden die Zusatzsubstanzen in der oben geschilderten Weise zum Citratplasma und Citratserum zugefügt.

Tabelle II.

Proben Nr.	I. Sedimentierung					II. Sedimentierung nach 12h					Vergleichsquotient: SMW$_{II}$ / SMW$_{I}$
	Versuchsanordnung	Sed. Zeit in Min.			SMW	Versuchsanordnung	Sed. Zeit in Min.			SMW	
		6mm	12mm	18mm			6mm	12mm	18mm		
1	0,2 5% Na citr. 0,8 Blut	17	27	46	30	wie bei der I. Sediment.	18	37	68	41	1,37
2	desgl.	16	26	45	29	0,02 Plasma ersetzt durch 0,02 pulver. Kaolin	30	85	141	85	2,93
3	desgl.	17	26	46	30	0,02 Plasma ersetzt durch 0,02 pulver. Bolus	28	80	135	81	2,70
4	desgl.	17	27	46	30	0,02 Plasma ersetzt durch 0,02 pulver. Kohle	20	60	127	69	2,30
5	0,2 5% Na citr. 0 8 defibr. Blut	210	380	670	420	wie bei der I. Sediment.	210	390	680	427	1,06
6	desgl.	210	380	670	420	0,02 Serum ersetzt durch 0,02 pulver. Kaolin	215	450	800	488	1,16
7	desgl.	210	380	680	423	0,02 Serum ersetzt durch 0,02 pulver. Bolus	215	440	780	478	1,13
8	desgl.	210	380	680	423	0,02 Serum ersetzt durch 0,02 pulver. Kohle	210	420	740	457	1,07

Bei Betrachtung des Versuchsergebnisses ist klar ersichtlich, daß die hemmenden Agentia im Citratblut eine mehr als doppelt verlangsamte Senkung gegenüber dem Kontrollcitratblut bedingen, während im defibrinierten Citratblut die Hemmung gegenüber der Kontrolle nicht einmal ein Fünftel beträgt: Es tritt also die Hemmung im defibrinierten Blut um das 10fache schwächer in Erscheinung als im nichtdefibrinierten Blut, so daß es wohl berechtigt sein dürfte, in diesem Versuche eine weitere volle Bestätigung der früher gezogenen Schlüsse zu erblicken.

Nachdem auf diese Weise bewiesen war, daß die angeführten agglutinationshemmenden Substanzen durch Beeinflussung des Fibrinogens ihre Wirksamkeit entfalten, war es naheliegend zu untersuchen, ob die agglutinationsfördernden Stoffe ihren Angriffspunkt in den Abbauprodukten fänden, indem sie diese durch Adsorption an sich reißen; dadurch würde unserer Vorstellung gemäß eine Verarmung der Erythrocytenoberflächen an lösenden Abbauprodukten mit konsekutiver Verminderung ihrer Wasserbenetzbarkeit eintreten. Diese Annahme verlangte zu ihrer Sicherstellung experimentelle Ergebnisse, die bei gleicher Versuchsanordnung ein den früheren Resultaten entgegengesetztes erkennen ließen. Die refraktometrischen Untersuchungen waren leider nicht durchführbar, weil die in Anwendung gebrachten Substanzen, Agar-Agar, Gelatine, Gummi und Stärke im Plasma teilweise gelöst werden, beim Auszentrifugieren also nicht mehr vollständig zu entfernen sind und auf solche Weise den Brechungsindex unberechenbar erhöhen. Dagegen ergaben die Flockungsproben ein ausgesprochen schnelleres und deutlicheres Auftreten der Reaktion, mit Ausnahme bei Einwirkung der Stärke, die, ebenso wie sie sich der Agglutination und Senkung gegenüber indifferent verhält, auch den Flockungsvorgang nicht beeinflußt. Da das Fibrinogen durch diese Zusätze nicht vermehrt werden kann, andererseits aber doch die Flocken sowohl größer als auch schneller ausfallen, kann die Erklärung wohl nur in einer chemisch-physikalischen Zustandsänderung des Fibrinogens, bewirkt durch die Zusatzsubstanzen, liegen. Nach der hier zur Diskussion gestellten Theorie würde diese Zustandsänderung in einer Adsorption von lösenden Eiweißspaltstücken an die zugefügten Stoffe seine Ursache finden, was einerseits in der verminderten Stabilisierung der Erythrocyten, andererseits des Fibrinogens zum Ausdruck käme.

Tabelle III.

Proben Nr.	I. Sedimentierung					II. Sedimetierung nach 3 h					Flockung: 0,02 Plasma 0,02 ges. NaCl-Lös.
	Versuchs-anordnung	Sed. Zeit in Min.			SMW	Versuchs-anordnung	Sed. Zeit in Min.			SMW	
		6 mm	12 mm	18 mm			6 mm	12 mm	18 mm		
1	0,2 5% Na citr. 0,8 Blut	22	35	57	38	wie bei der I. Sediment.	22	36	57	38	++
2	desgl.	23	36	59	39	0,02 Plasma ersetzt durch 0,02 pulver. Stärke	22	36	58	38	++
3	desgl.	22	35	57	38	0,02 Plasma ersetzt durch 0,02 pulver. Gelatine	12	18	29	20	+++
4	desgl.	22	34	57	38	0,02 Plasma ersetzt durch 0,02 pulver. Agar	11	15	19	15	+++
5	desgl.	23	35	58	39	0,02 Plasma ersetzt durch 0,02 pulver. Gummi	9	12	16	12	+++

Hatten die agglutinationshemmenden Stoffe im defibrinierten Blut ihren Einfluß verloren, weil sie durch die Entfernung des Fibrinogens keinen Angriffspunkt für die Entfaltung ihrer Wirksamkeit mehr vorfanden, so mußte der Einfluß agglutinationsfördernder Substanzen auch im defibrinierten Blut unbehindert in Erscheinung treten, wenn sie sich, wie oben ausgeführt, der niederen Eiweißkörper und -spaltstücke, die ja durch das Defibrinieren nicht entfernt werden, im Rahmen ihres Wirkungsmechanismus bedienen. Und in der Tat verläuft die beschleunigte Senkung auf Zusatz der erwähnten Stoffe im defibrinierten Blut fast ebenso schnell wie im nicht defibrinierten, wofür folgendes Versuchsprotokoll als Beispiel angeführt sei (s. Tabelle IV)

Daß Linzenmeier (l. c.) durch Histone und Protamine, Abderhalden[1]) durch Organpepton eine ausgesprochene Steigerung der Agglutinations- und Senkungstendenz bewirken konnten, ist bei der grobdispersen hochmolekularen Natur dieser Eiweißkörper auch nach unserer Auffassung wohl verständlich.

---

[1]) Abderhalden, Fermentforschung. 4. 3. 1921.

Tabelle IV.

Proben-Nr.	I. Sedimentierung					II. Sedimentierung nach 12h				
	Versuchsanordnung	Sed. Zeit in Min.			SMW	Versuchsanordnung	Sed. Zeit in Min.			SMW
		6 mm	12 mm	18 mm			6 mm	12 mm	18 mm	
1	0,2 5% Na citr. 0,8 Blut	45	82	215	114	wie bei der I. Sediment.	48	100	240	129
2	desgl.	46	84	220	117	0,02 Plasma ersetzt durch 0,02 pulver. Stärke	52	105	250	136
3	desgl.	45	82	215	114	0,02 Plasma ersetzt durch 0,02 pulver. Gelat.	25	48	97	57
4	desgl.	45	82	215	114	0,02 Plasma ersetzt durch 0,02 pulver. Agar	22	30	42	31
5	desgl.	45	83	215	115	0,02 Plasma ersetzt durch 0,02 pulver. Gummi	10	15	20	15
6	0,2 5% Na citr. 0,8 defibr. Blut	225	540	1100	622	wie bei der I. Sediment.	230	600	1300	710
7	desgl.	230	550	1100	627	0,02 Serum ersetzt durch 0,02 pulver. Stärke	240	620	1350	737
8	desgl.	225	540	1100	622	0,02 Serum ersetzt durch 0,02 pulver. Gelat.	35	60	820	72
9	desgl.	225	540	1100	622	0,02 Serum ersetzt durch 0,02 pulver-Agar	22	33	48	35
10	desgl.	225	540	1100	622	0,02 Serum ersetzt durch 0,02 pulver. Gummi	12	18	24	18

Neben dieser hier geschilderten Möglichkeit des Wirkungsmodus ist eine andere so wichtig, daß auf sie kurz eingegangen werden muß; es darf nämlich nicht übersehen werden, daß es sich bei den hier geprüften senkungsfördernden Substanzen um Stoffe handelt, deren erhebliches Quellungsvermögen sie befähigt, große

Mengen Wasser zu binden, das auf diese Weise anderen in Lösung zu erhaltenden Bestandteilen des Plasmas entzogen wird. Die Folge wird dann eben die Ausflockung der instabileren Elemente, in unserem Falle der Erythrocyten und Fibrinogenfraktion sein, genau so wie bei der Ausfällung von Eiweißlösungen durch gewisse Salze die wirksame Ursache der Wasserentzug ist.

Wie sehr Eiweißabbauprodukte stabilisierend auf labile disperse Phasen Einfluß nehmen, kann man unmittelbar durch Zusatz solcher Stoffe zur Beobachtung bringen. Zu diesem Zwecke wählte ich einerseits Tuberkuline verschiedener Herstellungsart, andererseits ihre sie zusammensetzenden Bestandteile gesondert, so daß bei vergleichender Betrachtung die Teilwirkung der einzelnen Komponenten erkennbar wurde.

Das gewöhnliche Alttuberkulin Koch stellt bekanntlich das Filtrat des auf ein Zehntel des Volumens eingedampften 4 proz. Glycerinextraktes einer Bouillonkultur dar; es enthält also außer 40% Glycerin vorwiegend niedrigmolekulare Eiweißkörper und -spaltstücke einerseits des Fleisch-, andererseits des Bacillenextraktes.

Nun wirkt schon das Glycerin an sich als Lipoidspaltstück erheblich agglutinationshemmend, auf $^1/_{10}$ ihres Volumens eingedampfte 4 proz. Glycerinbouillon hat schon eine stärkere Agglutinationsverminderung zur Folge, die schließlich durch Tuberkulin selbst, das außerdem noch die Extraktivstoffe des Tuberkelbacillus enthält, eine weitere Zunahme erfährt. Prüft man so wie in den vorhergehenden Versuchen nach Ablauf der zweiten Sedimentierung das Plasma auf sein Flockungsvermögen, so ist ein adäquates Ergebnis zu verzeichnen: Fast aufgehoben ist die Flockung im Tuberkulinplasma, schon deutlich stärker im Glycerinbouillonplasma und wieder deutlich verstärkt im Glycerinplasma, das seinerseits eine erhebliche Verminderung der Flockung gegenüber der Kontrolle aufweist.

Vergleicht man andererseits die Wirkung von Alttuberkulin mit albumosenfreiem Tuberkulin, das bekanntlich aus Kulturen, die auf eiweißfreiem Nährboden wuchsen, hergestellt wird, so ergibt sich auch hinsichtlich Hämagglutination und Plasmaflockung das erwartete Ergebnis in dem Sinne, daß das mit Alttuberkulin versetzte Blut beide Phänomene in ungleich vermindertem Ausmaß erkennen läßt gegenüber der Blutprobe, der AF zugefügt wurde, wie die folgenden Versuchsprotokolle zeigen.

Tabelle V.

Proben-Nr.	I. Sedimentierung Versuchsanordnung	Sed. Zeit in Min. 6 mm	12 mm	18 mm	SMW	II. Sedimentierung nach 12h Versuchsanordnung	Sed. Zeit in Min. 6 mm	12 mm	18 mm	SMW	Flockung 0,02 Plasma 0,02 ges. NaCl-Lös.
1	0,2 5% 0,8 Blut	18	28	46	31	wie bei der I. Sediment.	22	36	60	39	+++
2	desgl.	19	29	47	32	0,05 Plasma ersetzt durch 0,05 ATK	83	270	420	258	±
3	desgl.	17	27	45	30	0,05 Plasma ersetzt durch 0,05 auf $^1/_{10}$ einged. Glycerin-Bouill.	65	130	250	148	+
4	desgl.	17	27	45	30	0,05 Plasma ersetzt durch 0,05 40% Glycerin	31	52	86	56	++
1	0,2 5% Na citr. 0,8 Blut	30	57	87	58	wie bei der I. Sediment.	34	67	128	76	+++
2	desgl.	30	58	89	59	0,05 Plasma ersetzt durch 0,05 ATK	170	360	530	353	+
3	desgl.	29	57	87	58	0,05 Plasma ersetzt durch 0,05 AF	67	138	258	154	+

Es bleibt nun noch der Einfluß der Temperatur auf die Hämagglutination zu untersuchen, bei dem, wie schon aus Linzenmeiers Versuchen hervorgeht, scharf zwischen der während des Senkungsvorganges zur Geltung kommenden Temperatureinwirkung und der diesem vorausgehenden zu unterscheiden ist. Verfolgt man die Agglutination in gleichen Blutproben bei verschiedener Temperatur durch die Beobachtung der Senkungsgeschwindigkeit, so nimmt diese mit steigender Temperatur zu. Die Wärme beeinflußt also das Agglutinationsphänomen wie jede andere chemische und chemisch-physikalische Reaktion nach der RGT-Regel. Bringt man aber nun gleiche Blutproben nach der bei gleicher Temperatur erfolgten ersten Sedimentierung für die Zeit bis zur zweiten Sedimentierung in verschiedene Temperatur, so tritt bei der zweiten Senkung das entgegengesetzte Ergebnis in Erscheinung: Das in der niedersten Temperatur belassene Blut agglutiniert und sedimentiert am schnellsten, das

in der höchsten Temperatur verbliebene am langsamsten, was Linzenmeier zuerst auf eine Art „Inaktivierung" des Plasmas, später konkreter auf eine chemisch-physikalische Zustandsänderung des Fibrinogens zurückführte. Bestimmt man nun nach Ablauf der zweiten Sedimentierung das Brechungsvermögen des Plasmas, so findet man zumeist eine beträchtliche Verminderung desselben und zwar um so stärker, je höher die einwirkende Temperatur gewesen war und je länger sie angedauert hatte. Zugleich ist auch eine entsprechende Abschwächung der Flockung nachweisbar, was auch schon Linzenmeier auf Zusatz von destilliertem Wasser beobachtet hatte.

Tabelle VI.

Proben-Nr.	I. Sedimentierung					II. Sedimentierung nach 12h				
	Versuchsanordnung	Sed. Zeit in Min.			SMW	Versuchsanordnung	Sed. Zeit in Min.			SMW
		6 mm	12 mm	18 mm			6 mm	12 mm	18 mm	
1	0,2 5% Na citr. 0,8 Blut	25	44	83	50	Temperatur 20° C	32	60	110	67
2	desgl.	25	43	82	50	Temperatur 5° C	39	94	210	114
3	desgl.	26	44	84	51	Temperatur 37° C	21	33	52	35

Tabelle VII.

Proben-Nr.	I. Sedimentierung					II. Sedimentierung nach 12h					Brech. Index des Plasmas	Flockung 0,2 Plasma 0,2 ges. NaCl-Lös.
	Versuchsanordnung	Sed. Zeit in Min.			SMW	Versuchsanordnung	Sed. Zeit in Min.			SMW		
		6 mm	12 mm	18 mm			6 mm	12 mm	18 mm			
1	0,2 5% Na citr. 0,8 Blut	11	18	27	19	Zwischen I. u. II. Sed. bei 20° C	14	25	46	28	67,2	++
2	desgl.	11	18	27	19	Zwischen I. u. II. Sed. bei 5° C	11	18	28	19	68,2	+++
3	desgl.	11	18	27	19	Zwischen I. u. II. Sed. bei 37° C	80	158	290	176	66,0	+

Wenn wir nun aus diesen Befunden den Schluß ziehen, der nach den früheren Ausführungen wohl ohne weiteres statthaft ist, daß es sich nur um einen Abbau der Eiweißkörper im Citratplasma handeln kann, worauf ich schon in der ersten Mitteilung

hingewiesen habe, so erscheint die Deutung dieser Resultate von selbst gegeben: Bei dem Abbau werden Fibrinogen und andere hochmolekulare Eiweißkörper des Blutes gespalten und dadurch die früher zur Löslicherhaltung benötigten Eiweißabbauprodukte teilweise freigegeben, wodurch schon an sich Agglutination und Senkung gehemmt werden; dazu kommt noch als weiterer und wahrscheinlich ausschlaggebenderer Faktor die große Vermehrung der hochdispersen Spaltstücke, die bei dem Abbau der großen Moleküle zu fortschreitend kleineren neu entstehen, beides Vorgänge, die in gleicher Richtung wirken, indem sie die Agglutinationstendenz und damit die Senkungsgeschwindigkeit herabsetzen.

Dadurch finden die Befunde Abderhaldens (l. c.), der auf Dialyse von Schwangeren- und Normalplasma eine verzögerte Senkung beobachtete, auch von unserem Standpunkte eine befriedigende Erklärung, da in der Zeit, die die Dialyse in Anspruch nimmt, reichlich Gelegenheit zum Abbau von Eiweißkörpern gegeben ist, welcher außerdem noch in hervorragendem Maße dadurch gefördert wird, daß durch die Dialyse ständig Abbauprodukte entfernt werden, was den Ablauf der Reaktion erheblich beschleunigen muß.

Zusammenfassend läßt sich also sagen:

1. Nachdem einerseits der ausschlaggebende Einfluß des Fibrinogens auf Agglutination und Senkung der Erythrocyten im Sinne der Förderung sichergestellt ist, andererseits bei Zusatz hemmender Stoffe, wie Kaolin, Bolus alba, Tierkohle eine Verringerung des Fibrinogens durch Herabsetzung des Brechungs- und Flockungsvermögens des Plasmas nachgewiesen werden konnte, erscheint der Wirkungsmechanismus dieser Substanzen in dem Vermögen, Fibrinogen zu adsorbieren, begründet; eine Auffassung, die eine weitere Stütze darin findet, daß die Hemmung im defibrinierten Blute fast nicht in Erscheinung tritt. Auf der anderen Seite konnte die agglutinations- und senkungsfördernde Wirksamkeit von Gelatine, Agar, Gummi durch die gleichzeitige Stabilisationsverminderung des Fibrinogens im Sinne einer deutlich verstärkten Flockung desselben versinnbildlicht werden, während der Zusatz von hochdispersen Eiweißabbauprodukten in Form von Tuberkulinen verschiedener Herstellung und ihrer Bestandteile die Suspensionsstabilität der roten Blutkörperchen und gleichzeitig des Fibrinogens hervorragend erhöhte. Auf Beeinflussung durch Wärme schließlich wurde einerseits, falls die Einwirkung der erhöhten Temperatur den Agglutinations- und Senkungsvorgang zeitlich begleitete, eine Förderung,

andererseits bei vorhergehender Einwirkung eine Hemmung der Hämagglutination parallel zur Höhe der Temperatur beobachtet, gleichzeitig aber auch eine entsprechende Herabsetzung des Brechungs- und Flockungsvermögens des Plasmas festgestellt und daraus auf einen Abbau der grobdispersen Eiweißmoleküle zu hochdispersen geschlossen.

2. Die theoretische Verknüpfung dieser experimentellen Ergebnisse erscheint im Rahmen der früher vertretenen Auffassung dadurch gegeben, daß einerseits die Erhöhung der Suspensionsstabilität der roten Blutkörperchen, gekennzeichnet durch die Hemmung der Agglutination und Senkung, auf Zusatz von Kaolin, Bolus alba, Tierkohle durch das Freiwerden der bis dahin an das Fibrinogen gebundenen wasserlöslichen Eiweißabbauprodukte bedingt wird, welcher Wirkungsmodus in verstärktem Maße bei unmittelbarer Vermehrung dieser Elemente durch Zufügung von Tuberkulinen und ihren Bestandteilen oder durch den wärmebegünstigten Eiweißabbau im Citratplasma in Erscheinung tritt, während andererseits die Verminderung der Suspensionsstabilität mit konsekutiv gesteigerter Agglutinationstendenz und Senkungsgeschwindigkeit durch Gelatine, Agar, Gummi teils in der Verarmung der Erythrocyten an ihren Abbauprodukten durch Adsorption an die genannten Substanzen teils in dem Wasserentzug durch deren Quellung begründet erscheint.

Über Sulfat- und Esterschwefelsäure in normalen und pathologischen Körperflüssigkeiten.

Von

Wolfgang Heubner und **Robert Meyer-Bisch.**

(Aus dem Pharmakologischen Institut und der Medizinischen Klinik in Göttingen.)

(Eingegangen am 18. Juni 1921.)

In weiterer Verfolgung der in 2 früheren Arbeiten[1]) über die Folgen der parenteralen Schwefelverabreichung bei Gelenkerkrankungen aufgetauchten Probleme wurden Körperflüssigkeiten von verschiedenen Kranken auf das Vorhandensein von Sulfat- und Esterschwefelsäuren untersucht. Die Ergebnisse folgen unten. Im Laufe der Arbeit ergab sich aber die Notwendigkeit, auch die Verhältnisse beim Normalen zu überprüfen.

A. Untersuchungen an normalen Menschen.

1. Sulfatschwefel.

Soweit wir die Literatur übersehen, scheint von den meisten Autoren angenommen zu werden, daß sich im Blutplasma keine nachweisbaren Mengen Sulfationen finden und daß die in der Asche gefundene Schwefelsäure ausschließlich von organischen Schwefelverbindungen, natürlich in erster Linie vom Eiweiß, abstammt. Mit dieser Annahme stimmt es durchaus überein, daß man nach Enteiweißung menschlichen Serums durch gewöhnliche Hitzekoagulation beim Versetzen des sauren Filtrats mit $BaCl_2$ niemals die Spur eines Niederschlags erhält. Demgegenüber hat jedoch bereits Gürber[2]) dialysables Sulfat im Pferdeserum nachgewiesen und durch seinen Schüler Rosenschein zu 18—25 (im Mittel 22) mg H_2SO_4 auf 100 ccm bestimmen lassen. Merk-

---

[1]) Meyer-Bisch, Münch. med. Wochenschr. 1921, Nr. 17; Robert Meyer-Bisch und E. Basch, diese Zeitschr. 118.

[2]) Gürber, Verhandl. d. phys.-med. Ges. zu Würzburg 1893/94; Habilitationsschrift Würzburg 1904, Salze des Blutes.

würdigerweise scheint diese Feststellung in der Literatur wieder verlorengegangen zu sein. Jedoch hat vor einigen Jahren S. de Boer[1]) das Ultrafiltrat von Rinderserum analysiert und 21,6 mg% H_2SO_4 gefunden. Um selbst ein Urteil zu gewinnen und diese Angaben für menschliches Serum nachzuprüfen, analysierten wir das Dialysat von solchem auf Sulfat.

Einer 37 jährigen Frau, die in unserer Klinik wegen sekundärer Schrumpfniere mit Retinitis albuminurica behandelt wurde, wurden am 22. IV. 1921 300 ccm Blut aus der Vene entnommen. Von dem gewonnenen Serum wurden 75 ccm in Dialysierschläuchen von Schleicher & Schüll gegen destilliertes Wasser unter häufiger Erneuerung bis zur Chlorfreiheit dialysiert, was etwa 14 Tage in Anspruch nahm. Fäulnis trat nicht ein, auch sonst keine sichtliche Veränderung des Serums. Das Dialysat wurde auf dem Wasserbade eingetrocknet, der Rückstand mit salzsaurem Wasser aufgenommen, filtriert und mit $BaCl_2$ gefällt, der reichliche Niederschlag auf einem kleinen Barytfilter gesammelt, in einem sehr kleinen Porzellantiegel geglüht und auf einer Pregl-Kuhlmannschen Mikrowage gewogen. Er betrug 0,04284 g, was 24,0 mg H_2SO_4 in 100 ccm Serum entspricht. Der Versuch bildet daher eine unerwartet gute Bestätigung der Angaben von Gürber sowohl wie von de Boer. Die nunmehr 3 mal unabhängig voneinander gewonnenen Befunde zwingen zu dem Schlusse, daß Sulfationen in beträchtlicher Menge in der Blutflüssigkeit vorkommen, daß sie jedoch bei der gewöhnlichen Enteiweißung vollständig durch das Coagulum adsorbiert und festgehalten werden.

In genau gleicher Weise wurden daraufhin 2 Exsudate seröser Höhlen auf Sulfat untersucht, mit dem Ergebnis, daß sie 15 bis 16 mg H_2SO_4 auf 100 ccm enthielten.

1. Pleuraexsudat. 24 jähriges Mädchen, das wegen Pleuritis exsudat. sin. in die Klinik aufgenommen wurde. Punktion am 16. IV. 1921 ergab hellseröses, reichlich Lymphocyten enthaltendes Exsudat.

75 ccm der Punktionsflüssigkeit wurden bis zur Cl-Freiheit dialysiert. Im Dialysat, das nach der oben angegebenen Methodik behandelt wurde, fanden sich 0,0266 g $BaSO_4$, das sind 14,9 mg H_2SO_4 auf 100 ccm berechnet.

2. Ascitesflüssigkeit. 48 jährige Frau. Diagnose Polyserositis, reichlicher Ascites. Am 19. II. wurde deshalb Bauchpunktion nötig. Punktat enthielt reichlich Lymphocyten.

[1]) Journ. of physiol. **51**, 211. 1917, zit. nach Malys Jahresber. 1917.

60 ccm der Punktionsflüssigkeit wurden bis zur Chlorfreiheit dialysiert. Im Dialysat fanden sich 0,02298 $BaSO_4$, das sind 16,1 mg H_2SO_4 auf 100 ccm berechnet.

Diese Befunde bestätigen die am Blute gewonnenen Ergebnisse in erwünschtester Weise.

2. Esterschwefel.

Im Gegensatz zu der bisherigen, zweifellos irrigen Lehrmeinung über das anorganische Sulfat der Körperflüssigkeiten ist seit den Arbeiten von Zanetti[1]) in den Lehrbüchern allgemein angenommen, daß im Blutplasma sich Schwefelsäureester finden, die unter der Bezeichnung „Serümmukoid" gehen und deren organischer Paarling zu den Eiweißabkömmlingen gehört und nähere Beziehungen zur Chondroitinschwefelsäure erkennen läßt, insofern er wie diese einen Kohlenhydratkomplex enthält. Bei Gelegenheit der obenerwähnten klinischen Untersuchungen wurde ermittelt, daß solche Schwefelsäureester in beträchtlicher Menge im Blute von Menschen auftreten, die mit parenteralen Schwefelinjektionen behandelt waren (vgl. unten S. 123), während in gleichen Mengen Serum vom Normalen keine Spur davon nachzuweisen war, was übrigens mit den Angaben mehrerer früherer Untersucher durchaus übereinstimmt [Langstein, Bywaters[2])].

Im Hinblick auf diesen Befund schien es von Interesse, die obenerwähnten pathologischen Exsudate auch auf derartige Esterschwefelsäuren zu untersuchen. Dies geschah in der Weise, daß der in den Dialysierschläuchen hinterbliebene Rückstand mit etwa 5% HCl einige Stunden[3]) im Rückflußkühler gekocht, danach filtriert und im Filtrat $BaSO_4$ bestimmt wurde. Es ergab sich für das Pleuraexsudat 3,4 und für die Ascitesflüssigkeit 5,9 mg H_2SO_4 auf 100 ccm berechnet.

Die Menge veresterter Schwefelsäure ist also geringer als die Menge anorganischen Schwefels in den gleichen Exsudaten. Von dem Pleuraexsudat wurde außerdem noch der Gesamtschwefelgehalt zu 0,093% und der Stickstoff zu 0,890% bestimmt. Das Exsudat charakterisiert sich dadurch als ein stark entzündliches.

---

[1]) Zanetti, Malys Jahresber. der Tierchemie 27, 31. 1897.

[2]) Bywaters, diese Zeitschr. 15, 322 und 344.

[3]) Pleuraexsudat 8 Stunden, das andere 4 Stunden.

B. Untersuchungen an schwefelbehandelten Patienten mit Gelenkaffektionen.

1. Blut.

Wie oben bereits gestreift, wurde eine wichtige Abweichung vom Normalen im Blutserum von Gelenkkranken gefunden, die zu therapeutischen Zwecken mit intramuskulären Injektionen von 5—10 ccm 1proz. Aufschwemmung (+ Lösung) von elementarem Schwefel in Olivenöl behandelt worden waren. Wurde das hydrolysierte Filtrat des enteiweißten Blutserums mit $BaCl_2$ versetzt, so trat zuweilen sofort eine deutliche Trübung ein oder es setzte sich wenigstens im Laufe einiger Zeit ein Niederschlag ab. Die Reaktion war in 5 von 7 untersuchten Fällen positiv, in 4 nichtbehandelten absolut negativ. In 2 behandelten Fällen blieb die Reaktion ebenfalls aus. Es zeigte sich aber ein Zusammenhang zwischen der Reaktion und dem Eintritt der klinischen Allgemeinerscheinungen, die früher genauer geschildert wurden[1]; und zwar lagen die 2 negativen Fälle am Anfang und Ende der Reaktionsperiode, während die übrigen näher ihrem Kulminationspunkte lagen, der gewöhnlich gegen Ende des ersten Tages erreicht zu werden pflegt.

In 2 Fällen wurde das ausgefallene $BaSO_4$ gewogen.

Das Verfahren war folgendes: Nach reichlichem Aderlaß wurde nach spontaner Gerinnung das ausgepreßte Serum in einer Menge von 200 ccm mit dem 3fachen Vol. Wasser verdünnt und mit NaCl und Essigsäure versetzt, zum Kochen erhitzt und unter Nachwaschen mit Wasser filtriert. Das Filtrat wurde mit $^1/_3$ Vol. 10proz. HCl versetzt, auf kleiner Flamme in Verlauf von einigen Stunden stark eingeengt und mit $BaCl_2$ versetzt.

Fall 2. Christine S.[2]) Aderlaß 22 Stunden nach der ersten Schwefelinjektion. Gefunden 16 mg $BaSO_4$ entsprechend 3,4 mg H_2SO_4 in 100 ccm.

Fall 5. Stanislawa G. Aderlaß einen Tag nach der Injektion. Gefunden in 200 ccm Serum 0,001 $BaSO_4$ = 0,2 mg H_2SO_4.

2. Gelenkpunktat.

In einem Fall trat unerwarteterweise kurze Zeit nach der 2. Schwefelinjektion ein frischer Erguß in einem Gelenk auf, das zwar bei Beginn der Erkrankung mäßige Schmerzhaftigkeit gezeigt hatte, aber schon seit 6 Wochen völlig schmerzfrei gewesen war.

---

[1]) Meyer-Bisch l. c.

[2]) Die beiden Fälle entsprechen den in der klinischen Arbeit (Meyer-Bisch l. c.) unter der gleichen Nummer angeführten Patienten.

Die Punktion ergab 30 ccm eines trübserösen, reichlich polymorphkernige Leukocyten enthaltenden Exsudates, von dem 22 ccm für eine analytische Untersuchung verwertet werden konnten. Das Material erschien im Hinblick auf die Art der untersuchten Erkrankungen, wie auch auf die bekannten chemischen Eigentümlichkeiten des Knorpels (Chondroitinschwefelsäure) besonders wertvoll und wurde daher sorgfältig auf Sulfat- und Esterschwefelsäure analysiert.

Der Verlauf des Falles war folgendermaßen:

Nikolaus M., 22 Jahre. Diagnose: Polyarthritis rheumat. chron. Bei der Aufnahme am 25. XI. 1920 starker Druck- und Bewegungsschmerz im rechten Ellenbogengelenk und in beiden Fußgelenken, geringer Druckschmerz in beiden Kniegelenken. Am 4. XII. sind nach Atophan- und Lichtbogenbehandlung die Kniegelenke frei beweglich und schmerzfrei, die Beschwerden in den anderen Gelenken sind unverändert. Am 7. I. 1921 Schwefelinjektion; danach wesentliche, aber nur mehrere Tage anhaltende Besserung. Am 18. I. 2. Schwefelinjektion. Am 19. abends Temperatur 38,5°, am 20. abends 38,2°. Vom 21. I. ab ist die Temperatur völlig normal. Am 24. zeigt sich eine Schwellung des rechten Kniegelenkes, „Tanzen" der Patella. Am 25. I. Gelenkpunktion. Das Punktat erweist sich bakteriologisch als steril (Hygienisches Institut Göttingen).

Bei der Aufarbeitung verfuhren wir wie folgt:

22 ccm wurden mit $^1/_4$ Vol. 96 proz. Alkohol versetzt; dabei schieden sich stark gelbliche Flocken ab. Versuch zur Filtration blieb vergeblich: dickes, schleimiges, stark fadenziehendes Material. Reaktion gegen Lackmus deutlich alkalisch.

Deshalb wurde es mit 3fachen Vol. Wasser verdünnt, mit Essigsäure eben angesäuert, worauf sich feste Flocken eines weißen, klebrigen Körpers abschieden, z. T. am Glasstab ansetzten und zusammenballen ließen. Der Rest wurde zentrifugiert, der Niederschlag einmal mit schwach essigsaurem Wasser gewaschen.

Zentrifugat + Waschwasser = 94 ccm.

A. Niederschlag (Mucin).

Der Niederschlag wurde in Schälchen gebracht, auf dem Wasserbad getrocknet: Gewicht = 0,469 g. Der Trockenrückstand darauf zerrieben und gepulvert (unter Verlust), danach Gewicht = 0,383. Bei 105° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet = 0,360 g. Davon zur Hydrolyse: 0,356 g = 81% der Gesamtmenge.

Nach 3stündiger Hydrolyse wurde filtriert, das Filtrat mit $BaCl_2$ gefällt. Der Niederschlag wog 0,00169, das ergibt umgerechnet auf die ursprüngliche Menge getrockneten Mucins: 0,00209 $BaSO_4$ = 0,00088 H_2SO_4 (= 0,2%).

B. Zentrifugat (94 ccm).

Das Zentrifugat, das beim Erhitzen ausflockte, bei Zusatz von $^1/_4$ Vol. Alkohol sich trübte, wurde gegen oft erneuertes destilliertes Wasser bis zur Chlorfreiheit dialysiert.

I. Dialysat wurde auf dem Wasserbad eingetrocknet. Dabei schied sich etwas Eiweißkoagulat ab. Der Rückstand wurde in salzsaurem Wasser aufgenommen, filtriert. Das Filtrat wurde auf ca. 15 ccm eingeengt, mit 5 Tropfen 10 proz. HCl und $BaCl_2$ versetzt. Der reichliche Niederschlag wog: 0,01373 $BaSO_4$ = 0,00578 H_2SO_4.

II. Der Dialysierrückstand wurde filtriert. Das Filtrat war fast klar, nur mit der Lupe waren noch kleine Flocken sichtbar. Von der Gesamtmenge — 122 ccm — wurde ein aliquoter Teil — 10 ccm — zur Trockne gebracht: Rückstand = 0,058 g = 0,7076 g Gesamttrockenrückstand.

Zu den übrigen 112 ccm wurden NaCl und Essigsäure zugesetzt, das Ganze dann gekocht, der Niederschlag auf der Zentrifuge von der überstehenden Flüssigkeit getrennt und mehrfach mit essigsaurem Wasser gewaschen. Die Waschwässer wurden getrennt aufgehoben.

Von der ursprünglichen Flüssigkeit („Mutterlauge") wurden nach Trennung vom Koagulum 73 ccm gewonnen. Davon wurden 10 ccm in einer Glasschale zur Gewichtskonstanz eingetrocknet. Der Rückstand (0,0704 g) wurde danach mit Wasser aufgenommen und die Menge des zugesetzten NaCl titrimetrisch bestimmt (= 0,05800 g). Der organische Trockenrückstand des Zentrifugats betrug also 0,124%.

Das gesamte Waschwasser wurde auf einer Schale zur Gewichtskonstanz eingedampft = 0,1174. Der NaCl-Gehalt, in derselben Weise wie vorher bestimmt, betrug 0,083, der organische Trockenrückstand des Waschwassers also insgesamt: 0,0344.

Der Gesamttrockenrückstand des nichtkoagulierten Teils des Dialysierrückstandes betrug demnach: 0,1249 g, woraus sich als Trockenrückstand des Koagulums berechnet 0,5251.

Das Zentrifugat vom Koagulum, von dem nach Abzug der 10 ccm noch 63 ccm übrig waren, wurde mit 25 ccm 10 proz. HCl versetzt und 3 Stunden hydrolysiert. Das klare Filtrat wurde mit $BaCl_2$ versetzt. Gewicht des Niederschlags 0,00210 $BaSO_4$ in 63 ccm. Das ergibt auf 73 ccm 0,00243 $BaSO_4$ = 1,03 mg H_2SO_4 (1,1% der Trockensubstanz).

Hieraus ergibt sich durch Berechnung aus dem Trockenrückstand für das Waschwasser an durch Hydrolyse abspaltbarer Schwefelsäure 0,39 mg, also für 112 ccm Zentrifugat vom Koagulum an Esterschwefelsäure 1,41 mg. Auf 122 ccm umgerechnet 1,54 mg. Das Koagulum wurde mit 55 ccm 10 proz. HCl aufgelöst und 3 Stunden hydrolysiert, nach der Hydrolyse filtriert, zum Filtrat $BaCl_2$ zugesetzt und der sich bildende Niederschlag gewogen = 0,00227 $BaSO_4$ = 0,96 mg H_2SO_4 (0,18% der Trockensubstanz). Die Umrechnung auf die ursprünglich vorhandene Gesamtmenge ergibt 1,05 mg H_2SO_4.

Das Gelenkexsudat enthielt demnach:

Freie H_2SO_4	0,00578 g =	26,3 mg/%
durch Hydrolyse abspaltbare		
H_2SO_4 im Mucin	0,00088 „ =	4,0 „
„ Koagulum . .	0,00105 „ =	4,8 „
„ Filtrat davon .	0,00154 „ =	7,0 „
	0,00925 g =	42,1 mg/%;
	davon	15,8 „ Esterschwefelsäure.

Das Endergebnis dieser Untersuchung ist also dahin zusammenzufassen, daß das Gelenkexsudat etwas mehr Sulfat enthält, als in den bisher vorliegenden, freilich spärlichen Analysen des Blutplasmas gefunden wurde, und erheblich mehr als in 2 anderen pathologischen Exsudaten, und daß weiterhin die Menge der Esterschwefelsäure das Mehrfache der Esterschwefelsäure in diesen Exsudaten seröser Höhlen beträgt. Diese Tatsache weist mit Eindringlichkeit darauf hin, daß die im Gelenkexsudat gefundenen Schwefelsäureverbindungen nur zum Teil dem allgemeinen Kreislauf entstammen, zum Teil aus den Gelenkwandungen herrühren müssen. Unsere Kenntnis von dem chemischen Aufbau des Knorpels macht ja diesen Schluß auch äußerst glaubwürdig.

Wie der Knorpel sich von anderen Gewebearten durch eine charakteristische organische Schwefelsäureverbindung auszeichnet, so auch das pathologische Sekret einer Gelenkhöhle; in diesem Zusammenhang verdient es Beachtung, daß fast die Hälfte der Esterschwefelsäure noch im Filtrat nach Abscheidung des Mucins und der koagulablen Eiweißkörper zu finden war und dann einen wesentlich höheren Anteil der Trockensubstanz ausmachte.

Es ist wahrscheinlich, daß jedes Gelenkexsudat im Prinzip die gleiche Eigentümlichkeit aufweisen wird, unabhängig davon, welches die Ursache seiner Entstehung ist. Stets aber wird man zu der Schlußfolgerung gelangen müssen, daß während eines exsudativen Vorgangs im Gelenk Schwefelsäureester und wohl auch ein wenig Sulfat in löslicher Form aus dem Gewebe entbunden wird, daß also der Gelenkknorpel eine Stätte gesteigerter Bildung dieser Schwefelsäureverbindungen darstellt. Wir glauben also durch unsere Befunde eine Verbindung zwischen anatomisch klinischen und leicht faßbaren chemischen Vorgängen hergestellt zu haben.

Unter diesem Gesichtspunkt darf man die oben geschilderte qualitative Feststellung über die Schwefelsäureester des Blut-

serums nach Schwefelbehandlung wohl schon zu deuten versuchen, obwohl die quantitative Durcharbeitung dieses Befundes auf Grund der inzwischen gewonnenen Erfahrungen noch aussteht. Wenn unter den Erscheinungen einer gewaltigen klinischen Reaktion, die nach ihrem Abklingen zu einer auffälligen Änderung des krankhaften Zustandes von Gelenken führt, im Blute abnorm reichlich Schwefelsäureester auftreten, so können diese kaum von anderer Seite stammen, als aus den erkrankten Gelenken. Wenigstens ist hier die einzige bisher nachgewiesene Stätte, an der Schwefelsäureester in höherer Konzentration als in anderen Körpersäften vorkommen.

Gibt man dies zu, so wäre in dem genannten Befunde der Nachweis eines stofflichen Umsatzes in den Gelenken gegeben, der auf einen therapeutischen Eingriff hin erfolgt. Es bereitet keinerlei Schwierigkeiten, sich vorzustellen, daß sowohl bei entzündlich exsudativen Prozessen, wie auch bei Heilungsvorgängen ein stofflicher Umbau im Gewebe der Gelenkflächen erfolgt und daß jede Art dieses stofflichen Umbaus mit dem Freiwerden löslicher Spaltprodukte der Knorpelsubstanz einhergeht.

Das Eine glauben wir zum mindesten aussprechen zu dürfen: Der nach Schwefelbehandlung beobachtete Heilerfolg hat eine chemische Unterlage erhalten. Er bringt nicht nur eine funktionelle Änderung in Nerven oder lokaler Zirkulation mit sich, sondern auch eine stoffliche Umwandlung im erkrankten Gewebe, also nutritive und vermutlich auch formative Vorgänge.

Zusammenfassung.

1. In normalem menschlichen Blutserum wurde über 0,02% Sulfation nachgewiesen; bei Enteiweißung scheint es vollständig vom Coagulum adsorbiert zu werden.

2. In entzündlichen Exsudaten seröser Höhlen fand sich etwa $^2/_3$ des Serumwertes an Sulfation, daneben Esterschwefelsäure in geringerer Menge.

3. Nach parenteraler Schwefelinjektion bei Gelenkkranken war im Stadium der fieberhaften Reaktion die Esterschwefelsäure des Blutserums vermehrt, so daß sie auch nach Enteiweißung nachgewiesen werden konnte.

4. In einem Gelenkerguß wurde erheblich mehr Esterschwefelsäure gefunden als in den Exsudaten seröser Höhlen.

Über den Einfluß von Schwefelinjektionen auf den Gelenkknorpel.

Von

Robert Meyer-Bisch und Wolfgang Heubner.

(Aus der Medizinischen Klinik und dem Pharmakologischen Institut Göttingen.)

(Eingegangen am 18. Juni 1921.)

Die in der vorstehenden Mitteilung wiedergegebenen Befunde führten zu dem Schlusse, daß intramuskuläre Schwefelinjektionen bei gelenkkranken Menschen stoffliche Veränderungen des Knorpels herbeiführen. Um die Berechtigung dieses Schlusses weiter zu prüfen, wurden Versuche an Hunden vorgenommen, von denen der Knorpel selbst entnommen werden konnte.

Die Versuche wurden in der Weise angelegt, daß größeren und älteren, doch gesunden Tieren zunächst ein hinterer Oberschenkel amputiert wurde, von dem dann der Knorpel des Knie- und Fußgelenks verarbeitet wurde. Nach Verheilung der Wunde wurde eine Schwefelsuspension in Olivenöl in die Lendenmuskulatur injiziert und einige Tage darauf das zweite Hinterbein abgenommen, ehe das Tier getötet wurde. Die Gelenkknorpel wurden in gleicher Weise wie die des ersten Beines in Arbeit genommen (vgl. unten). Die Reaktion der Tiere war analog der der Menschen, indem sich Fieber einstellte. Bei dem zweiten Tier wurden überdies im Stoffwechselversuch gleichsinnige Schwankungen festgestellt, wie sie beim Menschen beschrieben wurden[1]) (Vermehrung des Stickstoffs, der Harnreduktion, des Urobilins, Verminderung des Chlorids und des Verhältnisses Neutralschwefel zu Gesamtschwefel).

Der Knorpel wurde mit scharfem Messer von den Gelenkflächen abgetragen, wobei relativ große Lamellen gewonnen

[1]) Meyer-Bisch und Basch, diese Zeitschr. **118**.

werden konnten. Einzelne dieser Lamellen wurden benutzt, um die Quellbarkeit des Materials in größeren Mengen destillierten Wassers zu prüfen. Es stellte sich heraus, daß der Knorpel in wenigen Stunden ein genau fixiertes Quellungsmaximum erreicht, das sich zahlenmäßig exakt in bezug auf das Trockengewicht ausdrücken läßt. Das Trockengewicht erhielten wir durch Liegenlassen an der Luft bei Zimmertemperatur.

Von dem getrockneten Knorpel, der sich ohne Gewichtsänderung beliebig lange aufbewahren ließ, wurden Gesamtschwefelbestimmungen vorgenommen. Bei einem Tiere wurde auch ein Teil davon dazu verwendet, um nach der Methode von Schmiedeberg[1]) durch Verdauung das Chondrin abzutrennen und somit auch seinen Anteil am Gesamtschwefel zu bestimmen. Unsere Absicht, dies auch bei dem zweiten Tier durchzuführen, wurde durch den Verlust zweier Analysen infolge Mißgeschicks vereitelt.

Die Veraschung der Materialien zur Analyse erfolgte nach Mischung mit Natriumsuperoxyd, die Ausfällung des Baryumsulfats im allgemeinen in einem Volumen von höchstens 20 ccm, die Filtration durch kleine Barytfilter unter Beachtung der von Pregl angegebenen Vorsichtsmaßregeln[2]), die Wägung in kleinem Porzellantiegel auf einer Pregl-Kuhlmannschen Mikrowage. (Bei Benutzung des von Pregl angegebenen Mikro-Neubauertiegels stießen wir in Vorversuchen auf erhebliche Schwierigkeiten. Der Niederschlag ließ sich ohne Verluste nicht auswaschen trotz vielfacher Bemühungen und genauer Befolgung der von Pregl angegebenen Vorschriften.)

Die Einzelheiten der Versuche waren folgende:

Versuch 1:

Am 20. XII. 1920 wurde in Morphin-Äthernarkose das linke Hinterbein oberhalb des Kniegelenks amputiert. Bei der Nachbehandlung bildete sich eine ausgedehnte Fasciennekrose nach der Leistenbeuge zu. Die Eiterung ging jedoch allmählich zurück. Am 29. XII. war die Wunde gereinigt, granulierte gut. Hund fraß mit gutem Appetit.

Temperatur 38,0—38,2°. Gewicht post amp. $17^1/_4$ kg. Am 2. I. 1921 6^h 45′ abends Injektion von 10 ccm einer 1 proz. öligen Schwefelmischung in die Lendenmuskeln. Die Temperatur stieg am 3. I. 1921 auf 39,4°. Am 4. I. Amputation des anderen Hinterbeins; danach Tötung.

[1]) Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 28.

[2]) Vgl. Mikroanalyse S. 124ff.

Außer sämtlichen Gelenkflächen des Knie- und Fersengelenks wurden auch die Gelenkscheiben des Kniegelenks verwertet. Sie wurden nach Zerkleinerung mit den übrigen ebenfalls zerkleinerten Knorpelstückchen gleichmäßig vermischt.

Ein Teil des Mischknorpels wurde mit dem salzsauren Extrakt frischer Magenschleimhaut vom Schwein mehrere Tage im Brutschrank verdaut, mit Wasser verdünnt und filtriert, im Filtrat und im Rückstand Gesamtschwefel getrennt bestimmt. Mit diesem Verfahren erreicht man nach Schmiedeberg eine Abtrennung der Chondroitinschwefelsäure vom Eiweiß, und zwar bleibt sie im unverdauten Rückstand.

Mit mehreren offizinellen und Handelspräparaten von Pepsin konnten wir keinerlei Verdauung erzielen.

I. Untersuchung des Knorpels vor der Injektion.

A. Quellungsversuch.

6^h 50′ p. m. wurde eine frische Knorpellamelle von 0,0662 g mit Platindraht an einer Wage aufgehängt und in destill. Wasser eingetaucht. Temperatur der Luft 5,2° C.

Verlauf der Quellung:

20. XII.	6^h 50′	p. m.	0,0662 g
	7^h 35′	„ „	0,1058 „
	10^h 20′	„ „	0,1076 „
21. XII.	10^h 45′	a. m.	0,1076 „

Trockengewicht derselben Lamelle 0,0209. Das Gewicht des gequollenen Knorpels beträgt also 415% mehr als sein Trockengewicht.

B. Gesamtschwefel-Analysen.

Nr.	Angewandt Trockenknorpel g	Gefunden $BaSO_4$ g	Schwefel %
1	0,200	0,0160	1,10
2	0,09266	0,00930	1,38
3	0,10366	0,00890	1,18
		Mittelwert:	1,22%

C. Analyse des verdauten Knorpels.

Angewandt 0,430 g Trockenknorpel. Dauer der Verdauung 10 Tage bei 37—40°. Der teigartige unverdaute Rückstand wurde auf aschefreies Filter gebracht, mehrfach gewaschen und zur Schwefelbestimmung verascht.

Gefunden: 0,01432 $BaSO_4$ = 0,456% S.

II. Untersuchung des Knorpels nach der Injektion.

A. Quellungsversuch.

Gewicht der frischen Knorpellamelle: 0,0583.

Verlauf der Quellung:

4. I.	1^h	p. m.	0,0583 g
	5^h	„ „	0,0869 „
	6^h 30′	„ „	0,0855 „
	7^h 30′	„ „	0,0863 „
5. I.	1^h	„ „	0,0859 „

Gewicht derselben Lamelle nach Lufttrocknung:

Am 5. I. 0,0184 g
„ 6. I. 0,0188 „

Das Gewicht des gequollenen Knorpels beträgt also 361% mehr als sein Trockengewicht.

B. Gesamtschwefel-Analysen.

Nr.	Angewandt Trockenknorpel g	Gefunden $BaSO_4$ g	Schwefel %
1	0,11241	0,00952	1,16
2	0,15648	0,01010	0,884
3	0,17382	0,01338	1,05
		Mittelwert:	1,03%

C. Analyse des verdauten Knorpels.

Angewandt 0,32102 g Trockenknorpel. Menge des zugesetzten Schleimhautauszugs 100 ccm. Dauer der Verdauung 10 Tage bei 37—40°. Der teigartige Rückstand wurde nach Abschluß der Verdauung filtriert und mehrmals gewaschen. Von Rückstand und Filtrat wurde Gesamtschwefel getrennt bestimmt. Von der im letzteren gefundenen Schwefelmenge war der Schwefelgehalt der Extraktflüssigkeit abzuziehen.

1. Gefunden im Rückstand 0,00843 $BaSO_4$ = 0,36% S.
2. Gefunden im Filtrat: 0,1302 $BaSO_4$ = 0,0178 g S.

Gefunden in 75 ccm des Extrakts der Magenschleimhaut 0,0869 $BaSO_4$ — 0,0119 S.

Danach enthielt der verdaute Teil des Knorpels 0,00196 g S (= 0,61%).

Die Summe der Analysen von verdautem und unverdautem Knorpel gibt 0,00312 g S, das entspricht einem Schwefelgehalt von 0,97% S, während die direkte Analyse 0,88—1,16% ergab.

Zusammenfassung.

	Vor Injektion %	Mittel	Nach Injektion %	Mittel
Gesamtschwefel	1,10—1,38	1,22	0,88—1,16	1,03
Chondrinschwefel	—	0,46	—	0,36
Quellungszunahme	—	4,15		3,61

Das Ergebnis spricht also für eine Verminderung des Gesamtschwefels, vor allem durch Verminderung der Chondroitinschwefelsäure, und eine mit dieser stofflichen Veränderung einhergehende kolloid-chemische Zustandsänderung im Sinne einer verminderten Quellbarkeit.

Versuch 2:

35 kg schwerer Hund. Am 10. III. 1921 Amputation des linken Hinterbeins[1]). Die Amputationswunde heilte per primam ohne jegliche Eiterung; das Tier kratzte sich schon nach 4 Tagen mit dem Stumpf. Vom 14. III. ab waren Allgemeinzustand und Appetit gut. Von diesem Tage ab bis zum Ende des Versuchs bestand die tägliche Nahrung lediglich aus 600 g Fleisch. Die für die 10tägige Versuchsperiode nötige Fleischmenge wurde vorher in Würfel geschnitten und gemischt. Am 21. III. Injektion von 10 ccm einer 4proz. Schwefelsuspension in die rechtsseitige Lendenmuskulatur. Am 26. III. Amputation des rechten Hinterbeins; danach Tötung.

Vom 18. bis 25. III. wurde der Harn des Tieres in 24stündigen Perioden quantitativ gesammelt und auf Gesamtstickstoff, Chlorid, Gesamtschwefel, Gesamtschwefelsäure und Ätherschwefelsäure untersucht. Außerdem wurde täglich die Reduktionsprobe mit Fehlingscher Lösung und die Urobilinprobe mit Fischlers Reagens ausgeführt. Die erhaltenen und daraus berechneten Zahlen und Reaktionsbefunde finden sich auf der nachstehenden Tabelle zusammengestellt.

	Diurese	N	NaCl	Gesamtschwefel als SO_3	Sulfat SO_3	Neutral als SO_3	Neutral zu Ges.-Schwefel als SO_3 %	Ätherschwefel SO_3	Reduktion	Urobilin
18. III.	740	10,9	5,25	1,54	1,11	0,42	27	0,004	+ +	θ
19. III.	1080	12,7	6,91	1,73	1,32	0,41	24	0,004	θ	θ
20. III.	1360	15,3	5,98	1,89	1,39	0,51	27	—	θ	θ
Injekt.										
21. III.	660	11,4	3,17	1,60	1,28	0,31	20	—	+ + + +	(+)
22. III.	1340	16,3	2,55	1,94	1,48	0,46	24	—	(+)	θ
23. III.	1150	14,3	3,22	2,06	1,71	0,35	17	0,004	θ	θ
24. III.	510	11,7	5,30	1,54	1,29	0,25	16	0,003	+	θ
25. III.	800	17,5	6,96	2,22	1,90	0,31	14	—	θ	θ

Täglicher Durchschnitt:

N vor der Injektion 13,0 g   NaCl vor der Injektion 6,05 g
N nach der Injektion 14,2 g   NaCl nach der Injektion 4,24 g

Die Verarbeitung des Knorpels war insofern anders als beim ersten Hund, als der abgeschabte Knorpel der Gelenkflächen und die Gelenkscheiben getrennt behandelt wurden. Zum Quellungsversuch wurde jedoch nur der hyaline Knorpel der Gelenkflächen, und zwar in mehreren Proben, verwandt.

I. Untersuchung des Knorpels vor der Injektion.

Gewonnene Knorpelmenge (Trockengewicht):

Hyaliner Knorpel . . . . . . 0,9021 g
Gelenkscheiben . . . . 0,8330 g

[1]) Sie wurde in der Chirurg. Klinik durch Herrn Privatdozenten Dr. Lehmann ausgeführt, dem wir auch hier für seine Hilfe herzlich danken.

A. Quellungsversuche.

1. Gewicht der frischen Knorpellamelle 0,1888 g.

Verlauf der Quellung:

10. III.	$7^h\,45'$	p. m.	Beginn
	$10^h\,30'$	„ „	0,2508 g
11. III.	8^h	a. m.	0,2730 „

Trockengewicht:

18. III.	0,0591 g
26. III.	0,0632 „
29. III.	0.0616 „
Mittelwert	0,0613 g

demnach Quellungszunahme 345% des Trockengewichts.

2. Gewicht der frischen Lamelle am 10. III. 0,1589 g.

Verlauf der Quellung:

11. III.	6^h	p. m.	Beginn
	$8^h\,30'$	„ „	0,2598 g
	$9^h\,30'$	„ „	0,2593 „
	$11^h\,30'$	„ „	0,2618 „

Trockengewicht:

18. III.	0,0490 g
26. III.	0,0517 „
29. III.	0,0508 „
Mittelwert	0,0505 g

demnach Quellungszunahme 418% des Trockengewichts.

3. Gewicht der frischen Lamelle am 10. III. 0,1496 g.

Quellungsverlauf:

12. III.	6^h	p. m.	Beginn
	$7^h\,30'$	„ „	0,2298 g
	12^h	„ „	0,2319 „
13. III.	9^h	a. m.	0,2344 „

Trockengewicht:

18. III.	0,0520 g
26. III.	0,0550 „
29. III.	0,0540 „
Mittelwert	0,0537 g

demnach Quellungszunahme 337% des Trockengewichts.
Mittelwert der 3 Quellungsversuche 365%.

B. Gesamtschwefel-Analysen.

a) Hyaliner Knorpel.

Nr.	Angewandt Trockenknorpel g	Gefunden $BaSO_4$ g	Schwefel %
1	0,13311	0,01817	1,87
2	0,12037	0,01741	1,98
3	0,12946	0,01814	1,92
4	0,12435	0,02525	2,78

zusammen ergeben 0,50729 g Trockenkn.: 0,07897 g $BaSO_4$; danach Mittelwert für Schwefel 2,133%.

b) Gelenkscheiben.

Nr.	Angewandt Trockenknorpel g	Gefunden $BaSO_4$ g	Schwefel %
1	0,12889	0,00863	0,918
2	0,13285	0,01138	1,173
3	0,12295	0,00987	1,100

zusammen ergeben 0,38469 g Trockenkn.: 0,02988 g $BaSO_4$; demnach Mittelwert für Schwefel 1,06%.

II. Untersuchung des Knorpels nach der Injektion.

Gewonnene Knorpelmenge (Trockengewicht):

Hyaliner Knorpel . . . . . . 0,8923 g
Gelenkscheiben . . . . 1,1037 „

A. Quellungsversuche.

1. Gewicht der frischen Knorpellamelle 0,2011 g.

Verlauf der Quellung:

26. III.	6h	p. m.	0,2011 g
	10h 15′	„ „	0,3151 „
27. III.	9h 30′	a. m.	0,3119 „

Trockengewicht:

1. IV.	0,0822 g
4. IV.	0,0830 „
Mittelwert	0,0826 g

demnach Quellungszunahme 281% des Trockengewichts.

2. Gewicht der frischen Lamelle am 26. III. 0,0719 g.

Verlauf der Quellung:

27. III.	9h	a. m.	Beginn
28. III.	9h	„ „	0,1744 g

Trockengewicht:

1. IV. . . . . . . 0,0350 g
4. IV. . . . . . . 0,0351 „

demnach Quellungszunahme 397% des Trockengewichts.

3. Gewicht der frischen Lamelle am 26. III. 0,0784 g.

Verlauf der Quellung:

28. III. 9h a. m. Beginn
7h 45′ p. m. 0,1510 g
29. III. 5h 40′ „ „ 0,1479 „

Trockengewicht:

1. IV. . . . . . . 0,0411 g
4. IV. . . . . . . 0,0416 „

demnach Quellungszunahme 263% des Trockengewichts.

Mittelwert der 3 Quellungsversuche 302%.

B. Gesamtschwefel-Analysen.

a) Hyaliner Knorpel.

Nr.	Angewandt Trockengewicht g	Gefunden $BaSO_4$ g	Schwefel %
1	0,12396	0,01522	1,68
2	0,12200	0,01750	1,98
3	0,12587	0,01627	1,76
4	0,12226	0,01984	2,22

zusammen ergeben 0,49409 g Knorpel: 0,06883 g $BaSO_4$: demnach Mittelwert für Schwefel 1,91%.

b) Gelenkscheiben.

Nr.	Angewandt Trockenknorpel g	Gefunden $BaSO_4$ g	Schwefel %
1	0,13084	0,00894	0,936
2	0,12908	0,00777	0,825
3	0,13066	0,01218	1,27
4	0,20870	0,02006	1,32

zusammen ergeben 0,59928 g Knorpel: 0,04895 g $BaSO_4$:
zusammen ergeben 0,59928 g Knorpel 0,04895 $BaSO_4$;
demnach Mittelwert für Schwefel 1,12%.

Zusammenfassung.

		Vor Injektion			Nach Injektion		
		Niedrigster Wert %	Höchster Wert %	Mittelwert %	Niedrigster Wert %	Höchster Wert %	Mittelwert %
Gesamtschwefel	Knorpel .	1,87	2,78	2,19	1,68	2,22	**1,91**
	Gelenkscheiben .	0,92	1,17	1,06	0,83	1,32	**1,12**
Quellungszunahme .		3,37	4,18	3,65	2,63	3,97	**3,02**

Die Ergebnisse des zweiten Versuches stützen sich auf eine größere Zahl von Einzelbestimmungen als die des ersten. Diese mehrfache Kontrolle deckt noch in größerem Maße als die am ersten Hund gewonnenen Resultate die Tatsache auf, daß Material ein und derselben Herkunft doch wesentliche Verschiedenheiten sowohl im Schwefelgehalt als auch im Quellungsvermögen aufweisen kann. Man wird also das Vertrauen zu Einzelbestimmungen nicht zu hoch spannen dürfen und wird aus dem Vergleich zweier Zahlen allein nur mit äußerstem Vorbehalt Schlüsse ziehen. In dieser Hinsicht wird also das nur durch je einen Versuch gestützte Ergebnis des Quellungsversuchs am Knorpel des ersten Hundes in seiner Bedeutung stark eingeschränkt.

Für die Beurteilung der Schwefelanalysen ist zu bedenken, daß immerhin die Hälfte des gesamten Knorpels zweier großer Gelenke jeweils in der Summe der Analysen verbraucht wurde (die andere Hälfte fand im Verdauungsversuch Verwendung). Der Zufall müßte also in besonderem Maße gespielt haben, wenn er die 2 mal gefundenen Differenzen durch die getroffene Auswahl der Knorpelstückchen verschuldet haben sollte.

Man muß also bis zu weiterer Ausdehnung des Versuchsmaterials doch wohl der Tatsache Beachtung schenken, daß die Mittelwerte in beiden Versuchen unerwartet gut zusammenstimmen, insofern beide Verminderung des Schwefelgehalts und der Quellbarkeit des Knorpels anzeigen.

Eine Ausnahme bilden die Zahlen für die isoliert untersuchten Gelenkscheiben in Versuch B; freilich ist ja die Struktur dieser Gelenkscheiben deutlich verschieden von dem des echten Gelenkknorpels, und zwar nicht nur histologisch, sondern auch chemisch, wie der wesentlich geringere Schwefelgehalt aufweist.

Obwohl wir uns klar bewußt sind, daß die erhobenen Befunde kein zwingendes Beweismaterial darstellen, möchten wir sie bis auf weiteres doch als Stütze für die aus der Analyse des Gelenkpunktats in der vorhergehenden Abhandlung gezogenen Schlusses ansehen, daß nach Schwefelinjektionen eine Art Abbau in den spezifischen Materialien des Gelenkknorpels erfolgt, der sich kolloid-chemisch in einer verminderten Quellbarkeit des Knorpelgewebes äußert.

Untersuchungen über die Blutkatalase bei Blutkrankheiten.

Von
Hermann Strauß und Gerhard Rammelt.
(Aus der Medizinischen Klinik Halle a. S.)

(Eingegangen am 19. Juni 1921.)

Van Thienen[1]) hat 1920 Mitteilungen über ein besonderes Verhalten der Katalase im Blut von Kranken mit perniziöser Anämie gemacht. Hierdurch angeregt und zum Zwecke der Nachprüfung dieser wichtigen Angaben haben wir Untersuchungen über die Blutkatalase angestellt, über die im folgenden berichtet werden soll.

Die große Verbreitung der Katalase im Tierkörper ist bekannt[2]). Auch im menschlichen Blut ist sie in sehr wirksamer Form vorhanden. Sie ist offenbar an das Stroma der roten Blutkörperchen gebunden. Im Serum ist sie nicht nachweisbar, vom Hämoglobin läßt sie sich abtrennen. Ihre chemische Natur hat Waentig[3]) weitgehend aufgeklärt. Es gelang ihm, das Ferment durch fraktionierte Extraktion, wiederholte Alkoholfällung, Dialyse und Adsorption an feinverteilte Substanzen aus Leber so rein darzustellen, daß es als ein von Purinbasen freier Eiweißkörper charakterisiert werden konnte. Die Katalase ist also kein Nucleoproteid, wie man früher glaubte, und sie irrtümlich in Beziehung zu den weißen Blutkörperchen brachte. Sie enthält aber eine Zuckerart und wahrscheinlich etwas Eisen und Phosphorsäure.

Nach dem Vorgehen von van Thienen haben wir uns an die von Jolles[4]) angegebene Methodik gehalten, da es uns auf 2 Punkte ankam: 1. auf die Katalasezahl, das ist die Menge

---

[1]) Dtsch. Arch. f. klin. Med. **131**, 113; siehe auch ders. Inaug.-Diss. 1917, Groningen (Holländisch), mit sehr umfangreicher Literatur.

[2]) Vgl. Oppenheimer, Die Fermente; Abderhalden, Lehrbuch der phys. Chemie, 4. Aufl., Bd. 2, S. 421.

[3]) Waentig und Gierisch, Fermentforschung, Bd. 1, S. 165.

[4]) Münch. med. Wochenschr. 1904, Nr. 47.

Wasserstoffsuperoxyd in Gramm, die 1 ccm einer 1 promill. Blutlösung aus 30 ccm 1 proz. Wasserstoffsuperoxydlösung zu zersetzen imstande ist. 2. Auf den Katalaseindex, das ist die Katalasezahl bezogen auf 1 000 000 roter Blutkörperchen.

Die Methode gestaltet sich demnach folgendermaßen: 10 ccm einer 1 promill. Blutlösung werden mit 30 ccm einer 1 proz. H_2O_2-Lösung in sterilen Gefäßen zusammengebracht. Für das Krankenbett ist es am besten, 0,05 ccm Blut mit geeichter Pipette zu entnehmen und mit physiologischer Kochsalzlösung auf 50 ccm aufzufüllen. Hierbei ist auf neutrale Reaktion des Wasserstoffsuperoxyds zu achten, da die Katalase schon gegen Spuren von Säure sehr empfindlich ist. Das Perhydrol Merck ist hierfür sehr geeignet, während dasselbe Präparat mit der Aufschrift „Tropensorte“, das nach dem Kriege vielfach im Umlauf war, eine deutliche Hemmung der Reaktion zeigte. Daneben stellten wir stets Kontrollen der gleichen Menge H_2O_2-Lösung mit 10 ccm steriler Kochsalzlösung auf. Wegen der geringen Empfindlichkeit des Ferments gegen Temperaturen zwischen 0° und 50° kann man bei Zimmertemperatur arbeiten. Nach genau 2 Stunden wird die lebhafte Gasentwicklung durch Zugabe einiger ccm 50 proz. Schwefelsäure unterbrochen und sofort mit einer genau gegen Oxalsäure eingestellten Kaliumpermanganatlösung, von der 1 ccm 2 mg H_2O_2 entspricht, titriert. Wird die durch Abzug der verbrauchten ccm von 150 ccm Permanganat (bzw. der durch die Kontrolle korrigierten Zahl) erhaltene Anzahl ccm auf 1 ccm der Blutlösung bezogen, so erhält man die Katalasezahl. Wir sind uns wohl bewußt, daß es sich hier um einen rein empirischen Wert und nicht um die wahre Fermentmenge handelt. Untersuchungen, die die Reaktionsgeschwindigkeit verfolgen sollen, sind im Gange.

Gleichzeitig mit der Blutentnahme, die am nüchternen Patienten vorgenommen werden soll, werden die roten Blutkörperchen gezählt. Es empfiehlt sich nach Bürker zu zählen oder wenigstens die gebräuchlichste Methode von Thomas-Zeiss damit zu kontrollieren. Es läuft hier eine Fehlerquelle unter, da ja bekanntlich die Zählmethoden für die roten Blutkörperchen sich mit der Exaktheit chemischer und physikalischer Messungen nicht vergleichen lassen. Immerhin ergaben Übung und Genauigkeit vergleichbare Resultate. Wird die so ermittelte

Zahl der Million roter Blutkörperchen in die Katalasezahl hineindividiert, so erhält man den Katalaseindex.

Um nun diese Methode nicht ohne Kontrolle einseitig zu benutzen, haben wir noch einen zweiten Weg eingeschlagen, und die entwickelte Gasmenge direkt gemessen. Wir haben uns dazu der Einfachheit halber eines groben aber handlichen Apparates bedient, nämlich des Azotometers nach Hüffner-Ambard-Hallion zur Bestimmung des Bromlaugen-N[1]). Es wurden 5 ccm der 1 promill. Blutlösung in den Apparat gefüllt und so viel Wasser zugegeben, wie zur Verdrängung der Luft nötig ist, sowie einige Glasperlen. Ist die Luft aus dem Apparat verdrängt, so werden 10 ccm der 1 proz. H_2O_2-Lösung zugelassen und unter häufigem Schütteln nach genau $^1/_2$ Stunde die entwickelte Gasmenge abgelesen, wobei Druck und Temperatur beobachtet werden. Die groben Ausschläge dieser Methode bestätigten uns im Prinzip die unten mitzuteilenden Versuchsergebnisse mit der Permanganattitration. Für diese Methode hat Stehle[2]) einen besonderen Apparat konstruiert.

Wir wollen nun unsere Versuchsresultate mitteilen und mit den Ergebnissen von van Thienen vergleichen. Bemerkt sei noch, daß Krumbhaar und Musser[3]) mit der eben erwähnten Methode von Stehle den Katalasegehalt des Blutes bei verschiedenen Formen der Anämien bestimmt haben. Sie bezeichneten als Katalaseindex den Quotient aus den in 15 Minuten freigewordenen ccm Sauerstoff zu der Millionenzahl der Erythrocyten. Sie fanden diesen Index bei anämischem Blut stets kleiner als beim normalen, unabhängig von der Art der Anämie. Milzexstirpation war ohne Einfluß darauf. Diese Resultate stehen im Gegensatz zu van Thienens Ergebnissen.

Wir geben zunächst unsere eigenen Versuchsergebnisse in 4 Tabellen wieder.

In Tabelle I geben wir eine Übersicht über 20 Fälle von Patienten mit normalem Blutbefund. Als Mittelwert ergibt sich hier für die Katalasezahl 19, nach van Thienen 27,5, nach Jolles 23[4]). Gemeinsam hat

[1]) Umber. Zentralbl. f. inn. Med. 38. 1917.

[2]) Stehle, Journ. of biol. chem. 39. 1919.

[3]) Journ. of the Americ. chem. soc. 75, 1920; Kongreß-Zentralbl. 14, H. 3, S. 198. 1920.

[4]) Jolles und Oppenheim, Beiträge zur Kenntnis der Blutfermente. Virchows Archiv 180, S. 185.

Tabelle I. Blut normal.

Name	Diagnose	Rote Blutkörperchen	Katalase-Zahl	Katalase-Index
1. Herr In.	Polyneuritis	4 700 000	22,5	4,8
2. Knabe Kurp.	Diabetes	3 500 000	16,0	4,6
3. Frau K.	Hysterie	4 900 000	23,0	4,7
4. " Kn.	"	3 900 000	16,7	4,3
5. " K.	"	4 600 000	21,8	4,7
6. " Schi.	Neurasthenie	4 100 000	17,7	4,3
7. " St.	Cystitis	3 500 000	17,7	5,0
8. " Th.	Mediastinaltumor	3 900 000	16,6	4,1
9. Herr Eb.	Vol. pulmon. auct.	4 800 000	12,6	3,0
10. " J.	Polyneuritis	4 690 000	16,5	4,0
11. Frau E.	Akute Glomerulonephr.	3 980 000	18,5	4,6
12. " S.	Facialisparese	4 600 000	17,5	4,3
13. " H.	Vitium cordis	4 500 000	21,5	4,8
14. " So.	Diffuse Glomerulonephr.	4 000 000	19,7	4,9
15. " P.	Salpingitis	4 090 000	19,14	4,7
16. Herr Bl.	Malaria (?)	4 500 000	22,0	5,0
17. Frau Vil.	Co-Vergiftung	4 320 000	26,3	6,0
18. " R.	Laryngitis	3 920 000	19,2	4,9
19. Herr Pa.	Ulcus ventriculi (?)	4 000 000	18,0	4,5
20. " Bi.	Verdacht auf Ca ventric.	4 800 000	22,7	4,7
		Mittelwert:	19,0	4,6

Tabelle II. Sekundäre Anämie. Blutbild normal.

Name	Diagnose	Rote Blutkörperchen	Katalase-Zahl	Katalase-Index
1. Herr K.	Ca. ventriculi	3 250 000	8,5	2,6
2. " Sch.	" "	3 170 000	7,0	2,0
3. " Si.	Endocarditis lenta	3 500 000	9,1	2,6
4. " Adl.	Ulcus ventriculi	3 000 000	13,3	4,3
5. Frau K.	Anämie post partum	2 150 000	12,3	5,5
Dieselbe, später	" " "	3 500 000	18,6	5,3
6. Herr M.	Ulcus ventriculi	2 400 000	11,41	5,2
7. " H.	Ca. ventriculi (?)	3 700 000	20,0	5,7
8. " P.	" "	3 140 000	18,1	5,8
9. Frau Kr.	Ca. (?)	2 800 000	16,5	5,1
10. Herr Gr.	Ulcus ventriculi	3 900 000	15,3	3,9
		Mittelwert:	15,0	4,8

Tabelle III. Blutkrankheiten.

Name	Diagnose	Rote Blutkörperchen	Katalase-Zahl	Katalase-Index
1. Frau B.	Chlorose	3 600 000	17,25	4,8
2. Herr H.	Lymphatische Leukämie	2 700 000	4,9	1,8
3. " O.	Myeloische Leukämie	2 800 000	12,86	4,5
4. " Sch.	Polycythämie	8 600 000	24,8	2,9
5. " P.	"	6 500 000	20,0	3,1
6. " Z.	"	13 000 000	27,4	2,1
7. Frau Kr.	"	7 200 000	29,3	4,6

Tabelle IV. Perniciöse Anämie.

	Name	Rote Blutkörperchen	Katalase- Zahl	Katalase- Index
1.	Herr Bl.	1 400 000	10,3	8
	Derselbe, später	2 800 000	26,3	9,4
2.	Frau W.	1 100 000	8,6	7,8
3.	„ G.	1 400 000	11,5	8,2
4.	Herr M.	1 300 000	8,9	6,9
5.	„ Matsch.	1 500 000	15,5	10,3
	Derselbe, später	1 500 000	13,5	8,9
6.	Herr Se.	2 000 000	21,1	10,6
7.	„ Se.	1 600 000	16,0	10,0
8.	„ Hag.	780 000	7,0	9,0
9.	„ He.	800 000	6,4	8,0
10.	„ Ros.	2 530 000	16,5	6,6
11.	„ Sch.	2 600 000	14,7	5,7
12.	Frau No.	220 000	14,1	5,4
13.	„ Ju.	1 800 000	8,5	4,7
14.	„ Jo.	1 500 000	8,09	6,0
15.	„ Kl.	1 600 000	8,08	5,0
16.	Herr Wi.	1 100 000	4,8	4,0
		Mittelwert:	14	8,5

unser Resultat also nur die Konstanz der Werte, freilich liegt diese zwischen etwas weiteren Grenzen als bei dem holländischen Autor. Durchgehends lagen unsere Werte niedriger. Trotz liebenswürdigster Unterstützung durch Herrn van Thienen war eine Erklärung für diese Tatsachen nicht zu ermitteln. Als normalen Katalaseindex sehen wir 4,5—5 im Durchschnitt an, während van Thienen 6 angibt.

Tabelle II führt uns in das Gebiet der sekundären Anämien infolge Krebs oder Magengeschwür, darunter auch eine frische Blutung bei der Entbindung (Fall 5). Wie bei van Thienen ist hier die Katalasezahl durchschnittlich gegen die Norm herabgesetzt, eine Tatsache, die auch schon Jolles angibt. Sie erklärt sich zwanglos aus der geringen Zahl der roten Blutkörperchen, aber auch hier liegt der Katalaseindex in normalen Grenzen.

Tabelle III zeigt uns seltenere Blutkrankheiten. Leukämien geben im allgemeinen normale Werte, nur Fall 2 liegt ungewöhnlich tief. Als wertvolles Gegenstück zu den Anämien standen uns 4 Fälle von pathologischer Vermehrung der roten Blutkörperchen, sog. Polycythämien, zur Verfügung. Es ist nun sehr auffallend, und wohl sicher nicht ohne Bedeutung, daß diese Fälle einen niedrigen Katalaseindex aufweisen. Wir kommen darauf noch zurück.

Tabelle IV gibt 16 Fälle von perniziöser Anämie, die zur Untersuchung gelangten. Hier sehen wir in Bestätigung der Resultate von van Thienen in 9 Fällen, also über 60%, bei niedriger Katalasezahl einen hohen, etwa das Doppelte der Norm erreichenden Katalaseindex. 2 Fälle zeigen normale Werte, die übrigen nur ganz leichte Erhöhung.

Suchen wir nun für die vorstehenden Befunde, die auf der einen Seite erhöhte Werte bei der perniziösen Anämie, auf der anderen unter der Norm liegende für die Polycythämien ergeben, eine Erklärung aus der Bedeutung der Katalase für den Organismus abzuleiten, so scheitern unsere Versuche an der Unkenntnis auf diesem Gebiete. Wir kennen noch einen Fall aus der Pathologie, wo der Katalasegehalt des Blutes erhöht ist. Es ist dies die Phosphorvergiftung. Hier ist die Katalase in der Leber vermindert, in den anderen Geweben und im Blute vermehrt. von Fürth[1]) ist der Ansicht, daß es viel näher liegt, hierbei an eine Ausschwemmung des Ferments aus dem nekrotischen Gewebe zu denken. als eine kompensatorische Vermehrung im Blut, wie man geschlossen hat, anzunehmen. Seitdem es zum mindesten sehr fraglich geworden ist, ob das Ferment mit den Oxydasen etwas zu tun hat, sondern wahrscheinlich nichtaktiver, molekularer Sauerstoff entwickelt wird, und solange seine Eigenschaft tatsächlich im Tierkörper vorkommende Peroxyde zu spalten, nicht sicher steht, können wir über die Bedeutung der Katalase im Tierkörper nichts aussagen. Immerhin ist es ja wohl nicht wahrscheinlich, daß das so allgemein verbreitete Ferment nur als zufälliger Bestandteil im Organismus vorhanden ist. Jedenfalls können wir aus dieser Betrachtungsweise noch keine Schlüsse für die vorliegenden merkwürdigen Befunde ziehen. Man könnte nun an Beeinflussung der Aktivität des Ferments durch irgendwelche abweichenden chemischen Bedingungen des vorliegenden Blutes denken. Es könnte ja ein Einfluß auf die Anti- bzw. Philokatalase oder deren Aktivator, soweit man diese anerkennen will, bestehen. Ferner wissen wir, daß die Katalase gegen Salze, Alkalien und Säuren empfindlich ist. Alkalien in schwacher Konzentration wirken aktivierend. Mit steigender H-Ionenkonzentration wird das Ferment stark gehemmt. Demgegenüber ist der stets normale Katalaseindex bei verschiedenen Krankheiten auffallend, bei denen die H-Ionenkonzentration gegen die Norm verändert ist, so bei Diabetes und Nephritis (siehe Tabelle I, Fall 2 mit starker Acidosis, ferner Fall 11 und 14). Auch hier ist ohne weiteres eine Deutung nicht möglich. Es bleibt noch als die naheliegendste Erklärung, daß die Änderung der

[1]) Probleme der physiologischen und pathologischen Chemie, 2, 548. Leipzig 1913.

Funktion der roten Blutzellen bei der perniziösen Anämie einerseits und der Polycythämie andererseits diesen Tatsachen zugrunde liegt. Man könnte daran denken (Volhard), daß die roten Blutkörperchen der Perniziosa in ihrer kleinen Zahl Riesen in ihrer Funktion und hier wie auch beim Hämoglobin Träger höherer Wirksamkeit sind, während bei der Polycythämie das Gegenteil der Fall ist, so daß man hier die Vermehrung der Blutzellen als gewissermaßen kompensatorisch für minderwertige Einzelexistenzen ansehen müßte. Eine exakte Beweisführung aber fehlt auch hierfür noch, denn der Färbeindex geht zahlenmäßig nicht mit dem Katalaseindex parallel, wie auch van Thienen beobachtet hat. Weitere Forschungen müssen hier noch klärend wirken.

Zusammenfassung.

1. Bei normalen Blutkörperchen sowie bei sekundären Anämien ist der Katalaseindex innerhalb gewisser Grenzen konstant.

2. Bei der perniziösen Anämie, und offenbar nur bei dieser, erreicht der Katalaseindex oft das Doppelte des Normalwerts, wenn auch ein normaler Katalaseindex nicht unbedingt gegen perniziöse Anämie spricht.

3. Bei pathologischer Vermehrung der roten Blutkörperchen ist der Katalaseindex in den untersuchten Fällen auffallend niedrig.

4. Die Erklärung dieser Befunde muß noch Gegenstand weiterer Forschung sein.

Chemische und biochemische Untersuchungen über das Nervensystem unter normalen und pathologischen Bedingungen.

IX. Mitteilung.

Die pathologische Chemie des Gehirns bei einigen Krankheiten mit dementiellem Ausgang.

Von

Giacomo Pighini.

(Aus dem wissenschaftlichen Laboratorium des Psychiatrischen Instituts in Reggio Emilia.)

(Eingegangen am 20. Juni 1921.)

Die beiden zur Analyse und zur fraktionierten Extraktion der Bestandteile des Nervengewebes von S. A. Mann und W. Koch und von S. Fränkel verwendeten Methoden, gaben in diesen letzten Jahren Anstoß zu vielen und fruchtbaren Anwendungen im Gebiet der pathologischen Klinik des zentralen Nervensystems.

Mit der ersten Methode haben die beiden englischen Autoren ungefähr 20 Gehirne bearbeitet, welche Normalen, solchen an Dementia praecox und solchen an progressiver Paralyse Leidenden angehörten; Mott und Mann wendeten sie in einem Falle von Dementia amaurotica an; Koch und Voegtlin bei menschlicher und experimenteller Pellagra an Mäusen und Affen; Koch und Rirdolè an normalen und durch experimentelle Beriberi ataktisch gewordenen Tauben.

Die Fränkelsche Methode wurde von Allers an Gehirnen von Senilen, von mir und Carbone an solchen von progressiver Paralyse und Dem. praecox, von Pellreani an Gehirnen von mit Alkohol vergifteten Hunden angewendet. Im pathologischen Gebiet gibt es dann weiter mit verschiedenen Methoden geführte Untersuchungen, so diejenigen von Barratt für die progressive Paralyse, die von Udransky für Hundetollwut, die von Smyth und Mair für die progressive Paralyse und Hemiplegie, die von Mott und Barratt für die Hemiplegie, die von Cianio an Tauben, welche mit glasiertem Reis gefüttert wurden.

Diese Untersuchungen haben ans Licht gebracht, daß das Nervengewebe im pathologischen Zustande merkliche Veränderungen in seiner chemischen Zusammensetzung erleidet, welche mit der Intensität des Krankheitsprozesses und der histologischen Veränderung in Beziehung zu stehen scheinen. Aber zu verstümmelt und unvollständig sind noch immer diese Befunde, um uns für jede bearbeitete Krankheit die relativen qualitativen chemischen Veränderungen zu ergeben. Auch ist die allgemeine Chemie des Gewebes noch nicht so weit, daß sie uns eine derartige Untersuchung gestattet.

Es wird vorerst nötig sein, auf solider experimenteller Basis die besondere chemische Zusammensetzung eines jeden Segments, eines jeden Elements und jeder einzelnen Zone des Neuraxis festzustellen; eine solche Arbeit hat Fränkel bereits begonnen, und derartige Untersuchungen versprechen in Zukunft uns eine wahre chemische Anatomie des Neuraxis zu verschaffen. Aus diesen ersten Studien ist jedoch eine wichtige Tatsache hervorgetreten, die wir bei der Bewertung der ersten Daten der pathologischen Chemie des Gehirnes werden im Auge behalten müssen: Nämlich, daß die wichtigsten und bekanntesten Lipoidbestandteile des Nervensystems, das sind Cholesterin, Kephalin, Sphingomyelin, die Cerebroside, Sulfatide, Sphingogalaktoside, in jeder Region des Neuraxis gegenwärtig sind, aber daß sie in demselben in verschiedenen Prozenten und Verhältnissen je nach der Zone und der Schicht verteilt sind. Zugleich sind der Wasser- und Proteingehalt und der der einzelnen Proteine (wie Globulin, Aminosäure) bei der weißen wie der grauen Substanz, bei Gehirn und Kleinhirn, bei Bulbus und Mark, verschieden; während man noch nicht hat feststellen können, ob gewisse chemische, organische und anorganische Komponenten gewissen Teilen oder Regionen eigen seien oder nicht. Die Untersuchungen schreiten indessen fort, und auf Grund derselben wird man in Zukunft sich auf qualitative differentiative Untersuchungen auf pathologischem Gebiet einlassen. Heute müssen wir uns mit den gröberen, aber sichereren Ergebnissen, die uns der Vergleich zwischen den verschiedenen fraktionierten Extraktionen nach den beiden obengenannten Methoden bietet, begnügen: Extrakte, welche normal bei gleichentwickelten Organen uns genügend konstante Werte liefern. Ein jeder derselben schon enthält bestimmte und in ihrer Molekularzusammensetzung wie in ihren chemischen, physischen und biologischen Eigenschaften bekannte Körper.

Zweck dieses Aufsatzes ist es, eine kritische Betrachtung über die ersten Ergebnisse der chemischen Analyse an degenerativ erkrankten, dem endlichen klinischen Bild von Dementia sich zuwendenden Gehirnen, zu stellen.

Die bisher unter diesen Krankheiten am besten erforschten, wie ich oben andeutete, sind die Dementia paralytica, die Dem. praecox, die Dem. pellagrosa. Obwohl diese Krankheiten in der Ätiologie wie in der Pathogenesis wohl unterschieden sind, kon-

vergieren sie mit ihrem klinischen Zyklus gegen die letzte dementiale Form hin und bieten bei der histologischen Untersuchung in ähnlichen Intensitätsphasen ähnliche Bilder: Lipoide Abbauprodukte im Gewebe und in seinen Elementen, Bildung von Amöboid-, Granulose- und Perivasolzellen, lipoidische, fortschreitende Entartung der Nervenzellen. Das nervöse Zentralorgan (bei Pellagra auch das Mark) erleidet bei diesen eine fortschreitende Entartung, welche den einzelnen klinischen Formen je nach der topographischen Festsetzung im Gewebe, nach ihrer Intensität und Qualität ein eigenes Gepräge verleiht.

Die Bedeutung der topographischen Verteilung der Verletzung tritt immer mehr hervor, je mehr die Cytoarchitektonik des Gehirns allmählich durch die histologischen Untersuchungen dieser Krankheiten bekannter und besser studiert wird. Eine bemerkenswerte Arbeit von Southard z. B. bringt das Verhältnis zwischen den Verletzungen gewisser Schichten (Supra- und Intracorticalen) und bestimmten Lappen in den an Dementia praecox erkrankten Gehirnen einerseits und ihren klinischen Äußerungen andererseits ins richtige Licht.

In betreff der Eigenschaft des entartenden Prozesses ist uns sehr weniges bekannt, da die histologische Untersuchung charakteristischer Befunde für jede einzelne dieser Krankheiten bisher nicht gelungen ist sowie auch ihre Krankheitserreger (abgesehen von Spirochäten in der progressiven Paralyse) und ihre Wirkungsart unbekannt sind. Weil man aber in der progressiven Paralyse auf jeden Fall einen an die syphilitische Infektion gebundenen Krankheitserreger anerkennen muß, wird es uns erlaubt sein, anzunehmen, daß andere ebenfalls spezifische Agentien (direkte oder indirekte Vergifter) bei den beiden weiteren Gehirnkrankheiten tätig seien, wobei ein jeder gewisse Teile oder histologische Elemente oder aber gewisse chemische Gewebsbildungen für seine Wirkung auswählt. Nur so erklärt sich die klinische Physiognomie dieser wohl unterschiedenen Krankheiten.

Wie wir oben andeuteten, wird es die Aufgabe der zukünftigen Pathologie sein, die qualitativen Unterschiede der einzelnen histologischen wie histochemischen Veränderungen zu untersuchen. Das bisher Bekannte scheint zu ergeben, daß der Reaktionsmodus des Nervengewebes diesen verschiedenen Erregern

gegenüber sich in einem in großen Linien gleichförmigen Verlauf vollzieht; was zu beweisen scheint, daß der Neuraxis, wenn er einen fortschreitenden degenerativen Prozeß erleidet, gegenüber unter sich verschiedenen Krankheitserregern sehr ähnliche histologische wie chemische Veränderungen zeigt; daß also der Prozeß immer der nämliche sei, auch wenn er durch verschiedene Ursachen hervorgerufen wird. Die spezifische Wirkung der krankheitserregenden Ursache, welche die Qualität der Verletzung bestimmt, würde sich hingegen vorwiegend in der topographischen Verteilung des Nervenorgans, in der Auswahl der Gebiete, für welche sie biochemische und physikalisch-chemische Affinität zeigt, und in der Intensität sich offenbaren. Es ist z. B. bekannt, welche zahlreichen Heilmittel und Gifte es sind, die primäre Entartung der Markseitenstränge bewirken; und doch zeigt sich die Verletzung durch alle diese verschiedenen Ursachen sowohl vom histologischen als vom histochemischen Standpunkt identisch. Es ist somit vernünftig, eine elektive Wirkung jener Gifte für ihre besonderen Nervenfasern (welche die Untersuchungen von Buglia und Maestrini von verschiedener chemischer Zusammensetzung als die übrigen Markstränge vermuten lassen) anzunehmen, wie es vernünftig ist, analoge Wirkung und selektive Fixierung auf die Corpus-callosumfasern seitens des Alkohols, auf die hinteren Wurzeln und Stränge seitens des luetischen Giftes, auf die hinteren Hörner seitens des Cocains und Stovains, auf die vorderen seitens des Strychnins, auf die sympathischen Endfäden seitens des Adrenalins usw. usw. anzunehmen.

Die ersten Resultate der chemischen Gehirnanalyse beweisen das oben Aufgeführte. Ich werde hier die bloßen Schlußfolgerungen der verschiedenen Untersuchungen zusammenfassen, wobei ich den Leser, der die hier gemachten Angaben gründlicher betrachten will, auf die Originalschriften verweise.

Bei der progressiven Paralyse (12 Fälle von Pighini und Carbone, 5 Fälle von Koch und Mann, verschiedene von Smith und Mair) hat man gefunden — am Gehirn — prozentige Zunahme von Wasser, Cholesterin, Proteinsubstanzen; sehr starke Abnahme der ungesättigten Phosphatiden, merkliche Abnahme der gesättigten Phosphatiden, der Cerebroide, Sulfatide und Sphingogalaktoside.

Bei der Dementia praecox (8 Fälle von Pighini, 9 von Koch und Mann) findet man (am Gehirn): Mäßige prozentige Zunahme an Wasser, Cholesterin und Proteinsubstanzen; leichte Abnahme der ungesättigten Phosphatide; merkliche Abnahme der gesättigten Phosphatide sowie der Cerebroside, Sulfatide, Sphingogalaktoside, sehr akzentuierte Abnahme von neutralem Schwefel (Koch und Mann).

Bei der Dementia pellagrosa (5 Fälle von Koch und Vögtlin), wobei Gehirn, Kleinhirn und Mark beobachtet wurden, sind die Veränderungen in den 3 Segmenten des Neuraxis etwas verschieden:

a) Im Gehirn: Das Quantum von Wasser und Proteinsubstanzen ist normal, während das Cholesterin etwas abgenommen hat, und ziemlich abgenommen haben die Phosphatide, die Cerebroside, der neutrale Schwefel.

b) Im Kleinhirn und im Mark Zunahme an Wasser, und im letzteren Zunahme an Proteinsubstanzen im Trockengewebe, Zunahme an Cholesterin und Abnahme der Phosphatide, Cerebroside, Sulfatide wie im Gehirn.

Man muß aber nicht vergessen, daß in allen diesen Fällen ein niedriges Gehirngewicht gefunden wurde, weshalb man mit aller Wahrscheinlichkeit annehmen darf, daß das Organ während der Krankheit eine Verminderung seines Originalgewichtes erlitten habe. Die Prozente an Wasser, Cholesterin, Proteinsubstanzen, die wir im frischen Gewebe vorfinden, könnten daher auch das Verbleiben dieser Bestandteile an Ort bedeuten, während ein Teil des Lipoidmaterials entfernt wird.

Wenn wir diese Resultate summarisch betrachten, sehen wir, daß sie in großen Linien sich entsprechen und daß sie uns einen gleichförmigen Prozeß in der Erkrankungsart des Neuraxis in den 3 betrachteten Krankheiten offenbaren. Wenn wir die Besonderheit der Abnahme an neutralem Schwefel bei Dem. praecox und pellagrosa, welche wahrscheinlich in Zusammenhang mit der topographischen Verteilung der histochemischen Veränderung steht, außer acht lassen wollen, so können wir in dem Gewebe, das degenerativen Vorgängen mehr ausgesetzt wurde (i. e.: die Gehirnhemisphären in der progressiven Paralyse und Dem. praecox, Rückenmark in der Pellagra), folgende Tatsachen wahrnehmen: Abnahme von Phosphatiden, Cerebrosiden,

Sulfatiden und Sphingogalaktosiden; Verbleiben im normalen Zustand oder Zunahme an Cholesterin, Wasser und Proteinsubstanzen.

Die Abnahme der Lipoide der ersten Gruppe scheint, je nach der Krankheit, merklicher zu sein in dem einen als in dem anderen der fraktionierten Extrakte, und es ist nicht ausgeschlossen, daß man ansehnlichen qualitativen Verschiedenheiten bei der analytischen Betrachtung der verschiedenen Extrakte begegnen könne (was schon Allers im Acetonextrakt von Senilgehirnen fand). Aufgabe der Zukunftsforschung ist es, das Problem von dieser Seite zu untersuchen, um immer besser die chemische Basis der psychischen und Nervenveränderungen in Beziehung mit den histologischen Verletzungen und der histochemischen Topographie des Neuraxis zu erkennen. Diese ersten Resultate der globalen fraktionierten Extraktion werden aber ihren Wert nicht verlieren, da sie uns über den Modus, wie das Nervenzentralorgan unter der Wirkung von bestimmten Krankheitserregern entartet, orientieren, welcher Modus — der dann zum klinischen Bild der Dementia oder, wenn auf die lokomotorischen Fasern und am Marke ausgedehnt, zum Bild der Paralyse führt — auch in anderen Nervenkrankheiten entsprechende Befunde zeigt. Im frischen Gehirn und Mark vom Hemiplegikern hat man Zunahme an Wasser und Abnahme an Lipoiden, ausgenommen das Cholesterin, das in normalen Verhältnissen verbleibt, gefunden (Smith und Mair, Mott und Barratt). Wir treffen Abnahme von Phosphatiden und Cerebrosiden auch in der wallerianischen Entartung der Nerven; im Gehirn der an experimenteller Beriberi und mit glasiertem Reis gefütterten Tauben finden wir entsprechend M. Koch und Rirdole einerseits und Ciaccio andererseits Abnahme von Phosphatiden; Udonsky begegnet bei Tollwut Lipoidentartung und relative Zunahme an Wasser im Gehirn.

Alle diese auf die Entartung des Neuraxis sich beziehenden Angaben sind mit denjenigen der 3 oben besprochenen degenerativen Geisteskrankheiten im Einklang.

Gestatten uns unsere Kenntnisse über die biochemischen und physikalisch-chemischen Eigenschaften der Nervengewebsbestandteile eine pathogenetische Erklärung dieses Entartungsvorganges zu wagen? Ein kleiner Versuch ist wohl erlaubt, selbstverständlich ist er allen späteren infolge der weiteren Unter-

suchungen und Entdeckungen in diesem dunklen Gebiet sich ergebenden Veränderungen unterworfen.

Halten wir indessen folgende Tatsache fest: Die Gehirnlipoide haben nicht alle dasselbe physikalisch-chemische Verhalten gegenüber organischen und anorganischen Lösungsmitteln. Grundverschieden zeigt sich das Cholesterin gegenüber den anderen Lipoiden. Während diese — z. B. das Kephalin, die Cerebroside, die Sphingomyeline — sich gegenüber den organischen Lösungsmitteln wie Kolloide verhalten, bildet hingegen das Cholesterin förmliche Lösungen (es erhöht deren oberflächliche Spannung und den Siedepunkt, wirkt auf die Dampfspannung im Verhältnis zu seinem Molekulargewicht); und während die anderen Lipoide in den wässerigen Emulsionen (wie in den kreisenden Plasmen) die oberflächliche Spannung der dispergierenden Mittel erniedrigen, erhöht sie das Cholesterin.

Ferner folgt ein jedes Lipoid in bezug auf die Substanz, die es adsorbiert, einer eigenen Adsorptionsisotherme; und auch bei dieser Erscheinung verhält sich das Cholesterin in entgegengesetzter Weise und wurde daher zu den „Halblipoiden" gezählt. Siehe z. B. die Experimente von Loewe über das Verhalten der verschiedenen Lipoide im biphasischen Lipoid-Chloroform-Methylenblauwasser-System. Der Krankheitserreger (dessen Wirkung auf die Diastasen wir beiseite lassen wollen) wird wegen seiner physikalisch-chemischen Verwandtschaft mit den Lipoidbestandteilen zwischen den beiden Phasen — wässerige Lösung und lipoproteidische Emulsion — verteilt, von bestimmten Lipoidbestandteilen dieser letzteren adsorbiert, wobei dadurch eine Zerteilung der physikalisch-chemischen endocellulären Gebäude bewirkt wird.

Da nun jede disperse Phase in bezug auf die adsorbierte Substanz in bestimmter Weise reagiert, wird es das Bestreben haben, in homogenen Tropfen sich zu sammeln und in dem Mittel sich zu differenzieren, wodurch es bei der histochemischen Prüfung ersichtlich wird. Je nach der Fähigkeit, sich in den wässerigen Plasmen, welche das Gewebe durchnässen, zu emulsionieren, werden diese befreiten Lipoide mit mehr oder weniger Leichtigkeit in jene diffundieren.

Die Untersuchungen von Novi sind in dieser Beziehung interessant. Er konstatierte, daß die Einspritzung von destillier-

tem Wasser an der Carotis das Gehirn von seinen Phosphatiden entblößt (bis zur Hälfte), während das Cholesterin in situ unverändert bleibt. Das erweist wiederum die verschiedenen kolloidalen Eigenschaften der beiden Lipoidgruppen, denn das Cholesterin verhält sich in den wässerigen Mitteln wie die hydrophoben Kolloide (Suspensoide), während die Phosphatide wie die Hydrophilen (Emulsoiden) sich verhalten, wobei die Leichtigkeit, mit der diese letzteren die optischen Eigenschaften ihres krystallinischen Zustandes verlieren, wenn man zu ihrem Krystallwasser noch weiteres Wasser beifügt, bekannt ist (Göthlin).

Wir haben oben gesehen, wie die chemisch-pathologische Veränderung der Gehirne im Dementiazustand, in den 3 bis jetzt unter diesem Gesichtspunkt untersuchten Krankheiten in der Hauptsache zu einer Verarmung der eigentlichen Lipoide (Phosphatide, Cerebroside usw.) der Gewebe führen, während das Cholesterin, das Wasser und die Proteinmasse in situ bleiben.

Es ist zur Zeit noch zweifelhaft, ob der Wassergehalt dieser kranken Gehirne absolut oder bloß im Verhältnis zum Gewicht der festen Masse, die gegenüber dem normalen Zustande abgenommen hat, sich vermehrt hat. Die Wasseraufnahme seitens des Nervengewebes erfolgt, nach Hocker und Fischer, wie beim Fibrin und dem Muskelgewebe, d. h. hauptsächlich mittelst Albuminoiden. Da nun die Albuminmasse vollständig gleich geblieben ist und ein Teil derselben den lipoproteidischen Trennungsprozeß erlitten hat, darf man annehmen, daß die neuen Proteinmoleküle ein größeres Quantum Wasser zu sich genommen haben, was den Verlust an Lipoiden wettmachen würde.

Ein jeder dieser pathogenetischen Erklärungsversuche bedarf eigener systematischer Untersuchungen; ich habe sie bloß angeben wollen, um darzutun, daß die wenigen Tatsachen, die uns bisher bekannt sind, mit dem chemisch-pathologischen Vorgang der 3 betrachteten Krankheiten im Einklang stehen. Es möge uns daher gestattet sein, für heute auf die Resultate dieser ersten Untersuchungen, welche die allgemeinen Regeln, die der Neuraxis bei seinem Erkranken unter der Wirkung von degenerativen Erregern befolgt, und welche ferner die klinische Tatsache der Umwandlung dieser Krankheiten in eine gleichartige Endphase der Dementia zu beweisen scheinen, aufmerksam zu machen.

Über den Kreatingehalt des menschlichen Herzmuskels bei verschiedenen Krankheitszuständen.

Von

Fr. Constabel.

(Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität Halle a. S.)

(Eingegangen am 30. Juni 1921.)

Die Frage, ob der Dehnungszustand des menschlichen Herzmuskels ausschließlich von der Kontraktionskraft und den Arbeitsbedingungen abhängt, oder ob außerdem ein von der Kontraktionskraft unabhängiger Tonus des Herzens besteht, hat neuerdings wieder vermehrtes klinisches Interesse gefunden. Klinische Beobachtungen weisen auf die Möglichkeit einer Dilatation hin, die in keinem direkten Verhältnis steht zu dem während der Diastole in dem betreffenden Herzabschnitt herrschenden Drucke. Auch am quergestreiften Skelettmuskel wird neuerdings wieder von manchen Autoren der Tonus von der Eigenschaft der Kontraktion getrennt und ersterer von dem autonomen, letzterer von dem willkürlichen motorischen Nervensystem abhängig gedacht. Pekelharing[1]) und Frank[2]) teilen Beobachtungen mit, die darauf hinweisen, daß in Muskeln mit erhöhtem Tonus der Gehalt an Kreatin vermehrt ist. Dem widersprechen freilich die Beobachtungen von Kahn[3]), der an den Muskeln der vorderen Extremitäten des Frosches während des tonischen Umklammerungsreflexes einen niedrigeren Kreatingehalt fand als an den nicht tonisierten Muskeln der Hinterextremitäten.

Wenn demnach die Frage nach der Beziehung des Kreatingehaltes zum Tonus des Muskels noch nicht geklärt ist, so erscheint es erwünscht, weitere Tatsachen als Beitrag zu dieser wichtigen Frage des Muskelstoffwechsels zu sammeln. Aus diesen Überlegungen heraus habe ich bei Leichen, die an verschiedenen Krankheiten gestorben waren, den Kreatingehalt des Herzmuskels, z. T. an Proben, die beiden Kammern entnommen waren, bestimmt.

---

[1]) Pekelharing, Zeitschr. f. physiol. Chemie **75**, 207.

[2]) E. Frank, Berl. klin. Wochenschr. 1919, Nr. 45.

[3]) R. H. Kahn, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **177**, 294. 1919.

Das Material stammte aus den Pathologischen Instituten der Universitäten Halle und Hamburg. Die Kreatinbestimmungen wurden nach den Vorschriften von Kahn ausgeführt. Doppelbestimmungen ergaben gut übereinstimmende Ergebnisse. Im ganzen wurden die Herzen von 38 Leichen auf ihren Kreatingehalt untersucht.

Dabei wurden folgende Ergebnisse erzielt:

In dem Herzmuskel menschlicher Leichen wurde bei normaler Muskelbeschaffenheit (Tod durch Suicid, im Status epilepticus) ein Kreatingehalt von 1,7—1,8 mg pro Gramm Muskelsubstanz gefunden. Ähnliche Werte fanden sich bei Nierenkranken mit straffem bzw. leicht hypertrophischem Herzmuskel (4 Fälle).

Niedrige Kreatinwerte zwischen 0,6 und 1,2 mg fanden sich bei 6 Fällen von fettiger Herzmuskelentartung mit, weicher brüchiger Muskelbeschaffenheit und bei einem Fall von Diphtherieherztod. Der Kreatingehalt des rechten und linken Ventrikels wies bei diesen Fällen keinen deutlichen Unterschied auf. Auch bei 2 Fällen von eitriger Peritonitis wurden niedrige Werte von 1,2 mg gefunden.

Bei 3 Fällen von Kachexie durch Rückenmarkstumor, Carcinoma recti und Katatonie wurden sehr niedrige Werte von 0,7—1,0 mg ermittelt, bei einem Falle von Tetanus nur 0,8 mg.

2 Fälle von Typhus abdominalis ergaben 1,40—1,46 mg, 4 Fälle von Lungentuberkulose 1,4—1,5 mg Kreatin. Eine tuberkulöse gelatinöse Pneumonie mit akutem Verlauf dagegen ergab den hohen Kreatinwert von 1,88 mg.

Bei Furunculose, Decubitus mit Weichteilabscessen und bei Osteomyelitis fanden sich 1,5—1,7 mg, bei einem Fall von Hirnabsceß 1,6 mg, bei 2 Fällen von Puerperalsepsis 1,88 mg Kreatin im Gramm Muskelsubstanz.

Während im allgemeinen die im linken und rechten Ventrikel bestimmten Werte bis auf weniger als 10% des Wertes übereinstimmten, fand sich bei einer Aorteninsuffizienz mit Hypertrophie des linken Ventrikels links 1,60, rechts 1,28 mg, bei einem zweiten ähnlichen Falle links 1,75, rechts 1,30 mg Kreatin.

Ein deutlicher Einfluß des Alters und Geschlechts auf den Kreatingehalt des Herzens wurde nicht beobachtet.

Im großen und ganzen wurde also bei guter straffer Beschaffenheit des Herzmuskels ein hoher Kreatinwert, bei schlaffer Beschaffenheit, besonders bei fettiger Entartung des Herzmuskels, niedriger Kreatinwert beobachtet.

Beiträge zur Physiologie der Drüsen.

XLVIII. Mitteilung.

Von
Leon Asher.
(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Bern.)

Untersuchungen über den respiratorischen Stoffwechsel des milzlosen Hundes.

Von
Chu Koda (Tokio).

(Eingegangen am 21. Juni 1921.)

Der respiratorische Stoffwechsel in seinem Zusammenhang mit der Milz wurde von Nicola Danoff an der Ratte untersucht. Es ergab sich, daß die Wegnahme der Milz eine Steigerung des respiratorischen Stoffwechsels bewirkte (Nicola Danoff, diese Zeitschr. 93, Heft 1/2. 1919). Daraus konnte der Schluß gezogen werden, daß mit Rücksicht auf den respiratorischen Umsatz Milz und Schilddrüse antagonistisch wirken, indem ja die Wegnahme der letzteren den respiratorischen Umsatz herabsetzt. Dieser Schluß stand auch im Einklang mit den Beobachtungen von Streuli (H. Streuli, diese Zeitschr. 98, 359. 1918), welcher gefunden hatte, daß Ratten ohne Milz empfindlicher, ohne Schilddrüse unempfindlicher gegen Sauerstoffmangel werden. Nun liegen die Verhältnisse bei der Ratte etwas eigenartig, indem die Ratte die Wegnahme der Milz nur 10 Tage lang überlebt, wie sowohl aus den Beobachtungen von Danoff wie auch denen von Lepehne hervorgeht. Hauri dehnte die Untersuchung auf das Kaninchen aus (Otto Hauri, diese Zeitschr. 98, 1. 1919) und fand bei diesen, daß nach Entfernung der Milz die Wasser und Kohlensäureabgabe steigt; auch fand er, daß die nachträgliche Entfernung der Milz beim schilddrüsenlosen Tier die auf die erste Operation hin verminderte Kohlensäure und Wasserausscheidung wieder zum Ansteigen bringt. Die letztgenannte Tatsache kann aber nicht so hoch bewertet werden, weil Ruchti (E. Ruchti, diese

Zeitschr. 105, H. 1—3. 1920) seitdem im Berner Physiologischen Institut fand, daß beim Kaninchen 8—10 Tage nach Wegnahme der Schilddrüse der respiratorische Umsatz sich wiederum der Norm zu nähern beginnt und erst durch hinzugefügte Wegnahme der Thymus längere Zeit, wenn nicht dauernd, auf seinem niedrigen Stande verbleibt.

Da der Hund dasjenige Tier war, an dem früher Asher mit seinen Mitarbeitern Grossenbacher und Zimmermann die Rolle der Milz am Eisenstoffwechsel klargelegt hatte, war es geboten, die Beziehung zwischen Milz und respiratorischem Stoffwechsel an diesem Tiere zu untersuchen. Ich folgte daher der Aufforderung von Professor Asher, den respiratorischen Umsatz des Hundes vor und nach der Milzexstirpation zu untersuchen.

Die Methode, deren ich mich bediente, ist die im Berner Institut übliche, wie sie zuletzt von José M. de Corral (José M. de Corral, diese Zeitschr. 86, 176. 1918) genau beschrieben wurde. Wie er, gebrauchte ich die Hundekammer des Jaquetschen Respirationsapparates und analysierte die gewonnenen Luftproben mit einem Haldaneschen Gasanalysenapparat. Alle Versuche wurden an einem $14^1/_2$ kg schweren Foxterrier, der sich zu Respirationsversuchen gut eignete, weil er in der Respirationskammer während der Versuchsdauer ruhig liegen blieb, angestellt. Vor Beginn der länger andauernden Versuchsperiode, die sich vom 1. V. 1919 bis zum 12. VII. 1919 erstreckte, wurde er auf die Versuche in der Kammer eindressiert. Der Hund erhielt als Nahrung einen gleichmäßig zusammengesetzten Hundekuchen. 20 Stunden vor Beginn eines Versuches wurde ihm die Nahrung entzogen, so daß er in dem geeigneten Zustand für die Untersuchung des Grundumsatzes in die Respirationskammer kam.

In der Zeit vom 1. bis 13. V. wurden 5 Respirationsversuche angestellt, die zur Beurteilung des Grundumsatzes des normalen Hundes während einer Periode gewöhnlicher Nahrung dienten.

Die Ergebnisse dieser Reihe, wie die aller nachfolgenden Versuche, sind in einer Generaltabelle zusammengefaßt, die alle nötigen Angaben enthält. Als Durchschnittswert ergab sich eine Kohlensäureproduktion pro Kilo und Minute von 7,23 ccm, ein Sauerstoffverbrauch pro Kilo und Minute von 8,76 ccm und ein respiratorischer Quotient von 0,76. Vergleiche ich meine Werte mit den sonst bekannten aus der Literatur, so stimmen dieselben mit ihnen ziemlich überein. Die Durchschnittswerte von Corral waren ein klein wenig höher, was wohl mit der Individualität seines Versuchshundes zusammenhängen mag. Der Respirationsquotient entspricht einem Stoffwechsel, an dem Fette und Eiweiß neben Kohlenhydraten in der normalen Weise beteiligt sind. Untereinander stimmten die Werte des Respirationsquotient aus 2 Versuchsperioden, wie die Tabelle zeigt, hinreichend überein.

Tabelle I.

(Hund Nr. III. Foxterrier.)

Nummer	Datum	Ventilation pro Stunde in Litern	Luftanalyse CO_2 %	Luftanalyse O_2 %	CO_2-Produktion pro Stunde i. Liter	CO_2-Produktion pro kg u. Min. in ccm	O_2-Verbrauch pro Stunde i. Liter	O_2-Verbrauch pro kg u. Min. in ccm	R.-Q.	Bemerkungen
1	1. V. 1919	668	0,94	19,80	6,08	6,99	8,02	9,22	0,76	Normaler Hund, gewöhnliche Nahrung.
		591	1,03	17,72	5,91	6,83	7,66	8,81	0,78	
2	3. V. 1919	791	0,70	20,05	5.30	6,42	7,51	9,10	0,71	
		1098	0,47	20,29	4,83	5,85	7,68	9,30	0,63	
3	7. V. 1919	791	0,75	20,03	5,69	6,57	7,59	8,76	0,75	
		803	0,71	20,06	5,46	6,30	7,47	8,61	0,73	
		815	0,74	20,05	5,78	6,67	7,58	8,74	0,76	
4	9. V. 1919	784	0,69	20,08	5,17	6,00	7,13	8,28	0,73	
		802	0,61	20,25	4,65	5,40	5,78	6,71	0,81	
		807	0,76	20,04	5,89	6,85	7,67	8,90	0,77	
5	13. V. 1919	1004	0,66	20,17	6,32	7,44	8,18	9,56	0,78	
		736	0,65	20,16	4,56	5,37	6,03	7,10	0,77	
	Mittelwerte:		**0,78**	**20,06**	**5,47**	**7,23**	**7,36**	**8,76**	**0,75**	

Tabelle II.

Nummer	Datum	Ventilation pro Stunde in Litern	Luftanalyse CO_2 %	Luftanalyse O_2 %	CO_2-Produktion pro Stunde i. Liter	CO_2-Produktion pro kg u. Min. in ccm	O_2-Verbrauch pro Stunde i. Liter	O_2-Verbrauch pro kg u. Min. in ccm	R.-Q.	Bemerkungen
6	14. V. 1919	758	0,84	19,94	6,14	7,16	7,96	9,28	0,77	Normaler Hund, Pepton gegeben.
		743	0,80	20,01	5,72	6,66	7,50	8,74	0,76	
7	19. V. 1919	771	0,79	20,00	5,86	6,81	7,64	8,87	0,77	
		726	0,81	19,99	5,67	6,58	7 26	8,44	0,78	
		748	0,74	20,03	5,31	6,17	7,18	8,34	0,74	
8	21. V. 1919	874	0,80	20,02	6,73	7,66	8,39	9,55	0,80	
		871	0,73	20,08	6,10	6,94	7,84	8,92	0,78	
		860	0,74	20,07	6,11	6,95	7,83	8,91	0.78	
9	26. V. 1919	669	0,88	19,94	5,68	6,42	6,95	7,86	0,82	
		630	1,11	19,70	6,80	7,69	8,07	9,11	0,84	
		636	0,98	19,87	6,04	6,83	6,99	7,80	0,86	
10	28. V. 1919	764	0,66	20,15	4.82	5,50	6,34	7,24	0,76	
		767	0,68	20,15	4,99	5,69	6,37	7,27	0,78	
		732	0,71	20,10	4,98	5,68	6,44	7,36	0,77	
	3. VI. 1919	856	0,60	20,23	4,88	5,61	6,61	7,08	0,79	
		760	0,66	20,15	4,79	5,50	6,31	7,25	0,76	
		792	0,72	20,11	5,47	6,28	6,89	7,92	0,79	
	Mittelwerte:				**5,65**	**6,53**	**7,21**	**8,28**	**0,79**	

Tabelle III.

Nummer	Datum	Ventilation pro Stunde in Litern	Luftanalyse CO_2 %	Luftanalyse O_2 %	CO_2-Produktion pro Stunde in Liter	CO_2-Produktion pro kg u. Min. in ccm	O_2-Verbrauch pro Stunde in Liter	O_2-Verbrauch pro kg u. Min. in ccm	R. Q.	Bemerkungen
11	13. VI. 1919	804	0,55	20,32	4,18	5,20	5,39	6,70	0,78	4. Juni Entmilzung. Milzloser Hund. Gewöhrliche Nahrung.
		796	0,60	20,19	4,54	5,65	6,37	7,92	0,71	
		756	0,60	20,23	4,23	5,26	5,74	7,14	0,74	
12	16. VI. 1919	864	0,50	20,32	4,06	5,09	5,70	7,14	0,71	
13	19. VI. 1919	857	0,53	20,30	4,28	5,33	5,62	7,25	0,74	
		732	0,61	20,18	4,25	5,28	5,86	7,29	0,73	
		752	0,59	20,26	4,21	5,24	5,84	6,64	0,79	
14	23. VI. 1919	746	0,68	20,17	4,74	5,99	5,59	7,37	0,81	
		709	0,86	20,06	5,46	6,74	6,45	7,96	0,85	
		733	0,71	20,18	4,18	5,15	5,57	6,87	0,75	
15	26. VI. 1919	789	0,70	20,15	5,29	6,48	6,47	7,93	0,82	
		790	0,61	20,24	4,85	5,61	5,77	7,07	0,79	
		767	0,79	20,07	5,83	7,15	6,91	8,46	0,84	
16	28. VI. 1919	806	0,76	20,08	5,89	7,24	7,18	8,83	0,82	
		791	0,62	20,23	4,67	5,74	5,85	7,20	0,80	
		752	0,69	20,12	4,96	6,11	6,47	7,86	0,77	
17	2. VII. 1919	800	0,54	20,32	4,08	5,02	5,20	6,40	0,78	
		805	0,78	20,04	6,04	7,43	7,57	9,01	0,80	
		808	0,65	20,18	5,01	6,16	6,46	7,95	0,78	
			Mittelwerte:		**4,78**	**5,89**	**6,08**	**7,58**	**0,78**	

Tabelle IV.

Nummer	Datum	Ventilation pro Stunde in Litern	Luftanalyse CO_2 %	Luftanalyse O_2 %	CO_2-Produktion pro Stunde in Liter	CO_2-Produktion pro kg u. Min. in ccm	O_2-Verbrauch pro Stunde in Liter	O_2-Verbrauch pro kg u. Min. in ccm	R. Q.	Bemerkungen
18	4. VII. 1919	781	0,85	19,99	6,41	7,82	7,73	9,44	0,83	Milzloser Hund. Pepton gegeben.
		849	0,71	20,14	5,77	7,05	7,04	8,60	0,82	
		840	0,66	20,19	5,29	6,46	6,55	8,00	0,81	
19	8. VII. 1919	768	0,77	20,05	5,68	7,09	7,14	8,91	0,80	
		845	0,82	19,99	6,67	8,33	8,36	10,44	0,80	
		818	0,76	20,03	5,94	7,41	7,65	9,55	0,78	
20	10. VII. 1919	831	0,71	20,15	5,65	7,03	6,90	8.57	0,82	
		825	0,66	20,06	5,20	6,44	6,76	8,38	0.77	
		816	0,77	20,06	6,04	7,49	7,43	9,20	0,81	
21	12. VII. 1919	820	0,51	20,33	3,94	4,81	5,33	6,51	0,74	
		809	0,75	20,10	5,82	7,11	7,04	8,59	0,83	
		850	0,63	20,22	5,10	6,23	6,38	7,79	0,80	
			Mittelwerte:		**5,68**	**6,94**	**6,86**	**8,67**	**0,81**	

In der nächsten Versuchsreihe erhielt der im übrigen gleich behandelte Hund anderthalb Stunden, ehe er in die Respirationskammer gebracht wurde, 30 g Witte-Pepton in 200 ccm Wasser gelöst.

Das Präparat wurde dem Hunde durch die Schlundsonde eingegeben. Ich gab das Pepton in der Absicht, den Hund während der Zeit, in welcher er sich in der Respirationskammer befand, in einen Zustand erhöhter Lebertätigkeit versetzt zu wissen. Daß die Eingabe von Pepton die Tätigkeit der Leber erhöht, wurde zum ersten Male von Asher und Barbera durch den Nachweis gezeigt, daß nach intravenöser Injektion von Pepton vermehrte Gallenbildung neben gesteigerter Lymphbildung zu beobachten ist. In mannigfacher Weise wurde seither die Steigerung der Lebertätigkeit unter dem Einflusse von Pepton von Asher und seinen Mitarbeitern erwiesen. Vom Standpunkte der Stoffwechselphysiologie ist besonders die von Tschannen gefundene Tatsache beachtenswert, daß orale Eingabe von Pepton bei der Ratte die Leber glykogenfrei machen kann. Am Hund hatte Loeb (Physiologisches Institut) gezeigt, daß Fütterung mit Pepton den Gallenfluß aus einer Dauerfistel merklich steigert eine Steigerung, die mindestens zum Teil auf vermehrte Bildung der Galle zurückzuführen ist.

Ich habe im ganzen 6 Versuche mit Peptonfütterung ausgeführt. Die Dauer des Aufenthaltes des Hundes in der Respirationskammer in den einzelnen Versuchen erstreckte sich über mehrere Stunden.

Wie meine Generaltabelle zeigt, war die Kohlensäurebildung und der Sauerstoffverbrauch eher in dieser ganzen Reihe etwas kleiner als vorher, nämlich pro Kilogramm und Minute 6,53 ccm CO_2 und 8,32 ccm O_2. Die kleine Abnahme führe ich auf die größere Gewöhnung des Hundes an das ruhige Liegen im Respirationskasten zurück. Der respiratorische Quotient war der gleiche wie in der Reihe vorher.

Das Ergebnis dieser Versuchsreihe liefert keinen Anhaltspunkt dafür, daß der respiratorische Stoffwechsel dem durch andere Methoden nachgewiesenen veränderten Verhalten der Leber Ausdruck verleiht. Man wird vielleicht geneigt sein, auf Grund der Respirationsversuche in Zweifel zu ziehen, daß überhaupt unter dem Einfluß des Peptons eine gesteigerte Lebertätigkeit zustande kommt. Ich glaube aber nicht, daß das negative Ergebnis irgendwie zwingend die besondere Art gesteigerter Lebertätigkeit, wie sie unter dem Einflusse des Peptons entsteht, abzulehnen nötigt. Es gibt Drüsenaktivität, welche mit einer sehr merklichen Steigerung des Umsatzes einhergeht, es gibt wiederum andere Drüsentätigkeiten, bei denen dies nicht der Fall ist. Die Streitfrage der Bewertung der sogenannten Verdauungsarbeit wäre nicht so schwer zu lösen, wenn die Beziehungen zwischen Gaswechsel und sämtlichen Drüsentätigkeiten einfacher Natur wären.

Am 4. VI. 1919 schritt ich zur Entmilzung des Hundes. Dieselbe geschah unter Anwendung von Morphium und Äthernarkose.

Der Bauchschnitt wurde entlang der Linea alba geführt. Die aseptisch bewerkstelligte Operation dauerte 18 Minuten. Nach Exstirpation der Milz, welche 37 g wog, untersuchte ich die weitere Umgegend auf das etwaige Vorhandensein von Nebenmilz. Am 13. VI. war die Operationswunde völlig geheilt, so daß der Hund zum ersten Male wieder in die Respirationskammer kommen konnte. Das Körpergewicht hatte am 3. VI. vor der Operation $14^1/_2$ kg betragen, am 13. VI., 9 Tage nach der Entmilzung, betrug es $13^1/_2$ kg. Auf diesem um 1 kg verminderten Körpergewicht hielt sich der Hund bis zum Schlusse sämtlicher Versuchsreihen am 12. VII. Der Hund erhielt in der Periode vom 13. VI. bis 2. VII. eine gewöhnliche gemischte Nahrung und kam behufs Untersuchung des Grundumsatzes nach 18- bis 20stündigem Fasten in die Respirationskammer. Im ganzen habe ich in dieser Reihe 7 Versuche angestellt.

Aus der Übersicht in meiner Generaltabelle ergibt sich, daß als Mittelwerte der 7 Versuche pro Kilogramm und Minute 5,89 ccm CO_2 gebildet und 7,53 ccm O_2 verbraucht wurden. Der Respirationsquotient blieb auf dem konstanten Wert von 0,78. Diese Versuchsreihe läßt sich nicht anders deuten, als daß die Entfernung der Milz beim Hunde nicht zu einer Steigerung des Grundumsatzes, beurteilt nach dem Gaswechsel, führt. Unerwartet ist dieses Ergebnis insofern, als Richet auf Grund der Untersuchung der Stickstoffausscheidung am Hund von einem gesteigerten Stoffwechsel infolge Fehlens der Milz spricht. Mein Ergebnis steht auch im Gegensatz zu dem Befund von Danoff an der Ratte. Es könnte bezweifelt werden, ob vielleicht die Milzexstirpation eine vollständige gewesen sei. Wir besitzen aber ein Kriterium, um die Vollständigkeit der Milzexstirpation zu beurteilen, das ist das Vorhandensein von Jollykörpern im Blute. Ich habe nach der Milzexstirpation bis zum Schlusse der Arbeit die Jollykörper im Blute nachweisen können. Es könnte ferner der Einwand erhoben werden, daß der negative Ausfall der Versuche eine individuelle Erscheinung an meinem Versuchshund gewesen sei. Ich habe mir diesen Einwand selbst gemacht und auch an einem zweiten Hunde gearbeitet, konnte aber aus äußeren Gründen die an diesem Hunde begonnene Versuchsreihe nicht zu Ende führen. Daß der genannte Einwand aber hinfällig sei, wird in der nachfolgenden Arbeit von Dr. Doubler gezeigt, der unter neuen Bedingungen das Verhalten des milzlosen Hundes prüfte.

Ich schloß an die soeben dargelegte Versuchsreihe eine weitere

an, in welcher dem milzlosen Hunde in der früher beschriebenen Weise Pepton gegeben wurde. Ich habe 4 derartige Versuche angestellt. Wie aus meiner Übersichtstabelle hervorgeht, beträgt der durchschnittliche Wert pro Kilogramm Körpergewicht und Minute 6,94 ccm CO_2-Bildung und 8,67 ccm O_2-Verbrauch. Diese Werte sind größer als diejenigen, die den Gaswechsel des milzlosen Hundes bei gewöhnlicher Nahrung betreffen, und sie sind auch größer als die Werte beim normalen Hunde während der Periode der Zufuhr von Pepton. Es ist noch zu bemerken, daß alle sonstigen Bedingungen während der Versuchsreihe genau die gleichen waren wie vorher, namentlich war die Temperatur des Versuchsraumes nicht verschieden. Nach dem, was ich früher ausgeführt habe, war eigentlich unter der Einwirkung von Pepton eine Erhöhung des Gaswechsels zu erwarten; sowohl deshalb, weil die spezifisch dynamische Wirkung hätte eintreten können, wie auch wegen der durch anderweitige Methoden nachgewiesenen Erhöhung der Lebertätigkeit. In der Normalreihe war aber eine derartige Steigerung nicht eingetreten. Daß sie in der Versuchsreihe am milzlosen Hunde zum Ausdruck gelangt ist, ist nicht ganz leicht zu erklären. Das Wenige, was wir über den Zusammenhang von Milz und Lebertätigkeit wissen, besteht in Grundlagen über die Vorstellung, daß die Milz die Tätigkeit der Leber zu aktivieren vermag. Abgesehen von Puglieses Beweis, daß bei fehlender Milz die Gallenfarbstoffbildung vermindert ist, sind es namentlich die von Ebnöther im Berner Laboratorium aufgefundenen Verstärkungen der Hämolyse und des Hämoglobinabbaus in der Leber durch Milzextrakt, die in diesem Sinne sprechen. Ich hatte sogar ursprünglich die ganze Versuchsreihe mit Pepton deshalb geplant, um einen Einblick in die Größe der Lebertätigkeit beim normalen und milzlosen Tier zu erhalten. Bei dem Ausfall des Versuches beim Normaltier bleibt aber der Versuchsplan auf diesem Wege vorläufig nicht durchführbar und deshalb muß auch auf einen Erklärungsversuch der anscheinenden Erhöhung des Gaswechsels im letzten Versuch verzichtet werden.

Als wesentliches Ergebnis der vorstehenden Arbeit ist der Nachweis zu bezeichnen, daß beim Hunde, der auf gewöhnliche Weise ernährt wird, die Milzexstirpation keinen erkennbaren Einfluß auf die Größe des Gaswechsels hat, daß demnach die Verhältnisse anders liegen als bei der Ratte und dem Kaninchen.

Beiträge zur Physiologie der Drüsen.

XLIX. Mitteilung.

Von

Leon Asher.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Bern.)

Der respiratorische Umsatz des milzlosen und eisenarm ernährten Hundes.

Von

Francis H. Doubler.

(Eingegangen am 21. Juni 1921.)

In einer aus dem Berner Institut hervorgegangenen Arbeit fand Streuli, daß entmilzte Ratten auf Luftverdünnung viel intensiver als normale Ratten reagierten, diese wiederum mehr als schilddrüsenlose Tiere. Vorher konnte Rippstein in einer gleichfalls aus dem Berner Institut hervorgegangenen Arbeit zeigen, daß die Symptome, welche er bei Ratten in der Unterdruckkammer beobachtete, auf Sauerstoffmangel beruhten. Im Anschluß hieran verglich Danoff den respiratorischen Stoffwechsel von normalen und milzlosen Ratten miteinander und fand dabei, daß nach Entfernung der Milz der Grundumsatz, beurteilt an Kohlensäurebildung und Sauerstoffverbrauch, von Tag zu Tag zunahm, während die respiratorischen Quotienten unverändert blieben. Sodann konnte Duran zeigen, daß die Empfindlichkeit gegen Sauerstoffmangel bei mit Schilddrüsensubstanz gefütterten Ratten viel größer ist als bei normalen Ratten und noch größer als bei schilddrüsenlosen Tieren. Aus all diesen Untersuchungen an Ratten ergab sich eine antagonistische Beziehung zwischen der Milz und der Schilddrüse — die eine hemmt, die andere fördert den respiratorischen Stoffwechsel.

Dubois, der an Kaninchen arbeitete, wies auf eine antagonistische Beziehung zwischen Milz und Schilddrüse in bezug auf die Blutbildung hin. Messerli konnte dadurch, daß er den Vorgang der Blutbildung bei experimentell erzeugtem Sauerstoffmangel weiter verfolgte, neue Stützen für die behauptete Beziehung gewinnen. Auch für die Faktoren, die an der Blutgerinnung beteiligt sind, konnte Yamada ein ähnliches Verhältnis wahrscheinlich machen.

Am Hund konnte zuerst der Nachweis geliefert werden, daß die Milz ein Organ des Eisenstoffwechsels sei, in dem Asher und seine Mitarbeiter Grossenbacher und Zimmermann bewiesen, daß, wenn die Milz fehlt, abnorm große Mengen von Eisen ausgeschieden wurden. Diese Tatsache gilt auch für den Menschen, wie aus den Untersuchungen von Bayer in der Carréschen und von Roth in der Eichhorstschen Klinik hervorging. Die neue Lehre wurde dann durch die späteren histologischen Untersuchungen von Aschoff und M. B. Schmidt bestätigt.

Etwas abseits von der Reihe der genannten Tatsachen steht die von Ebnöther in seinen Untersuchungen im Berner Institut erkannte neue Funktion der Milz, die Tätigkeit der Leber bei der Hämolyse roter Blutkörperchen und dem Abbau von Hämoglobin zu aktivieren.

Was nun die Untersuchungen des respiratorischen Stoffwechsels anlangt, so lagen bisher nur Versuche an der Ratte vor, während am Hund nur der Eisenstoffwechsel in seiner Beziehung zur Milz geprüft wurde. Deshalb hat Koda in der meiner Arbeit voraufgehenden Untersuchung den respiratorischen Umsatz des normalen und milzlosen Hundes miteinander verglichen. Das Ergebnis dieser Untersuchung war, daß ein Unterschied im Gaswechsel nicht zutage trat. Nun hatte Koda seine Untersuchungen an Hunden angestellt, welche mit gewöhnlicher Nahrung, also einer, welche erfahrungsgemäß die auch für den milzlosen Hund hinreichende Eisenmenge enthielt, ernährt waren. Daß dieser Umstand bei Prüfung der Milzfunktion nicht gleichgültig ist, hatte Sollberger bei seinen Untersuchungen an Kaninchen gezeigt. Normale und milzlose Kaninchen regenerieren gleichgut ihre roten Blutkörperchen, wenn sie mit der Nahrung die nötigen Eisenmengen erhalten. Sobald aber das Eisen in der Nahrung fortgelassen wird, tritt die Minderbefähigung des milzlosen Kaninchens zur Blutregeneration zutage.

Weglassung von Eisen bedeutet nun an sich schon einen Stoffwechseleingriff und daher mußten zuerst die von Koda mitgeteilten Versuchsreihen angestellt werden, die von dieser Änderung absahen. Ich folgte der Anregung von Professor Asher, um erst den Grundumsatz des normalen anfänglich mit gewöhnlicher, sodann mit eisenarmer Nahrung ernährten Hundes zu vergleichen, um dann nach Entfernung der Milz bei andauernd eisenarmer Ernährung die gleichen Untersuchungen fortzusetzen. Das zum Versuch dienende Tier war eine zu Gaswechseluntersuchungen sehr geeignete Hündin, etwa 10 Monate alt und von 24 kg Körpergewicht. Der respiratorische Gaswechsel wurde während einer ersten Periode, während welcher der Hund mit Hundekuchen ernährt wurde, untersucht. Daran schloß sich die Periode mit eisenarmer Nahrung, hierauf die Entmilzung und die letzte Periode bei Andauer der eisenarmen Ernährung. Der Hämoglobingehalt des Blutes wurde fortlaufend bestimmt und vor und nach Entfernung der Milz auf das Vorhandensein von Jollykörpern untersucht. Gleich hier sei bemerkt, daß diese Körper erst nach der Entmilzung zur Beobachtung gelangten. Die eisenarme Nahrung hatte folgende Zusammensetzung:

Stärkekleister	200 g
Schmalz.	100 g
Zucker	100 g
Milch	1000 g

Die tägliche Zubereitung der Nahrung geschah in einem Aluminiumtopf. Auf die Dauer empfand der Hund Widerwillen gegen die Nahrung, konnte aber doch zur Aufnahme derselben bewogen werden. Er behielt sein Körpergewicht bei, blieb gesund, war von normaler Lebhaftigkeit und bei guter Stimmung. Die Untersuchungen geschahen wie diejenigen von Corral und Koda in dem Jaquetschen Stoffwechselapparat des Berner Physiologischen Instituts; zur Gasanalyse diente ein Haldanescher Gasanalysenapparat. Die Einzelheiten der Methodik wurden in den Arbeiten der genannten Autoren beschrieben. Alle Versuche wurden zur gleichen Tageszeit von 9—12^{h} morgens am nüchternen Hund ausgeführt. Die Vorventilation dauerte immer eine Stunde.

Die Operation, Entfernung der Milz, wurde unter Morphium-Ätheranästhesie ausgeführt. Bei der Operation wurde die Umgebung der Milz auf etwaige akzessorische Milzen abgesucht, ohne daß eine solche gefunden wurde. Das Tier erholte sich rasch nach der Operation.

Die Ergebnisse meiner Versuche lege ich in einer Generaltabelle nieder, die aus 3 Tabellen besteht.

Tabelle I, die wichtigste meiner Arbeit, enthält eine Zusammenstellung

Tabelle I.

Datum	Zeit	Temperatur	Ventilation pro Std. auf 0h, 760 korrigiert	Körpergewicht	CO_2-Produktion pro Stunde i. Liter	CO_2-Produktion pro kg u. Min. in ccm	O_2-Verbrauch pro Stunde i. Liter	O_2-Verbrauch pro kg u. Min. in ccm	R.-Q.	Bemerkungen
2. VI. 1919	50′	18,4	785	23,75	5,99	4,20	7,66	5,38	0,782	Lag ruhig auf dem Bauch und schlief meist.
	1h	18,5	860		6,47	4,54	7,75	5,44	0,834	„ „ „ „ „ „ „ „
3. VI. 1919	50′	19,2	826	24,05	5,34	3,70	6,19	4,29	0,862	„ „ „ „ „ „ „ „
	30′	19,3	826		5,91	4,10	7,74	5,36	0,763	„ „ „ „ „ „ „ „
4. VI. 1919	50′	18,6	736	24,00	7,47	5,18	8,99	6,23	0,831	Stand einmal auf und lag dann wieder auf dem Bauch.
	1h	18,6	849		6,84	4,74	8,61	5,97	0,794	Etwas unruhig, blieb aber liegen.
9. VI. 1919				Durchschnitt:	6,34	4,41	7,82	5,45	0,811	
9. VI. 1919										Eisenarme Nahrung angefangen.
12. VI. 1919	1h	17,7	809	23,4	6,82	4,85	8,41	5,98	0,811	Lag ruhig auf dem Bauch und schlief meist.
	1h	18,0	797		6,39	4,54	7,62	5,42	0,839	„ „ „ „ „ „ „ „
15. VI. 1919	1h	17,5	887	24,00	7,05	4,91	8,62	6,00	0,818	„ „ „ „ „ „ „ „
	1h	17,9	881		6,50	4,53	7,90	5,50	0,823	„ „ „ „ „ „ „ „
19. VI. 1919	1h	17,0	880	23,8	7,03	4,93	8,89	6,24	0,790	„ „ „ „ „ „ „ „
	1h	17,7	881		6,63	4,65	8,50	5,97	0,780	„ „ „ „ „ „ „ „
25. VI. 1919	1h	21,2	911	24,7	7,08	4,78	9,05	6,12	0,781	Blieb ruhig liegen, schlief aber nicht; Atmung beschleunigt.
	1h	22,0	918		7,56	5,11	9,82	6,64	0,769	„ „ „ „ „ „ „ „
29. VI. 1919	1h	23,0	945	24,4	7,94	5,43	10,56	7,23	0,752	„ „ „ „ „ „ „ „
	1h	23,8	944		6,67	4,57	8,80	6,03	0,758	„ „ „ „ „ „ „ „
1. VII. 1919	1h	20,8	897	24,5	7,94	5,41	10,31	7,03	0,770	Unruhig, bewegte sich viel, blieb aber liegen.
				Durchschnitt:	7,05	4,88	8,95	6,20	0,790	
2. VII. 1919										Splenectomie.
9. VII. 1919	1h	17,1	830	23,1	6,97	5,03	8,87	6,40	0,785	Ruhig, schlief meist.
	1h	17,6	828		6,49	4,69	8,29	5,98	0,783	„ „ „
12. VII. 1919	1h	19,8	826	23,85	6,81	4,76	8,49	5,93	0,801	„ „ „
	1h	20,4	820		6,36	4,45	7,67	5,36	0,830	„ „ „
19. VII. 1919	1h	21,5	757	23,75	5,44	3,88	6,65	4,66	0,818	— Atmung beschleunigt, lag ruhig, schlief nur gelegentlich.
	1h	21,2	789		5,73	4,02	7,12	4,99	0,805	„ „ „ „ „ „ „
23. VII. 1919	1h	22,0	813	23,75	5,52	3,87	7,01	4,92	0,788	„ „ „ „ „ „ „
	1h	22,3	804		6,05	4,25	7,68	5,38	0,790	— Lag ruhig auf dem Bauch und schlief.
31. VII. 1919	50′	18,4	953	23,75	6,02	4,23	8,22	5,77	0,732	„ „ „ „ „ „ „
	50′	18,8	905		5,58	3,92	7,56	5,30	0,739	„ „ „ „ „ „ „
31. VIII. 1919	1h + 50′	16,5	779	23,95	5,66	3,93	7,49	5,20	0,755	„ „ „ „ „ „ „
1. IX. 1919	1h	15,5	625	23,8	5,11	3,58	6,62	4,65	0,771	„ „ „ „ „ „ „
	1h	15,7	647		5,71	4,00	7,77	5,45	0,734	„ „ „ „ „ „ „
				Durchschnitt:	5,96	4,20	7,65	5,38	0,779	

sämtlicher Gaswechselversuche in üblicher Weise. In der Vorperiode betrug der Grundumsatz pro Kilogramm Körpergewicht und in der Minute 4,41 ccm CO_2-Bildung und 5,45 ccm Sauerstoffverbrauch, der R. Q. dieser ersten Periode betrug 0,811.

Vom 9. VI. bis 1. VII. erhielt der Hund die oben beschriebene eisenarme Nahrung. In dieser Versuchsperiode wurde an 6 Tagen ein Respirationsversuch angestellt. Die Mittelwerte des Grundumsatzes betrugen pro Kilogramm Körpergewicht und in der Minute 4,88 ccm CO_2-Bildung und 6,2 ccm O_2-Verbrauch. Der Mittelwert des R.Q. belief sich auf 0,790. In dieser Periode mit eisenarmer Ernährung hat sich demnach eine Erhöhung des Grundumsatzes von etwa 14% herausgestellt, ein Wert, der weit über der Schwankungsbreite normaler Versuche liegt. Es muß aber erwähnt werden, daß in dieser Periode 3 sehr warme Tage sich ereigneten. Während der Versuche an diesen Tagen blieb der Hund zwar ruhig liegen, aber er schlief nicht wie gewöhnlich, hielt vielmehr den Kopf erhoben und atmete sehr beschleunigt. Die hiermit verbundene Muskelarbeit könnte schon genügen, die beobachtete Erhöhung des Grundumsatzes zu erklären. Es liegt daher keine Nötigung vor, dem Eisenmangel in der Nahrung die Schuld hieran zuzuschreiben. Die Exstirpation der Milz fand am 2. VII. statt. In der Zeit vom 9. VII. bis 1. IX. wurden die weiteren Gaswechselversuche an dem milzlosen, eisenarm ernährten Hund angestellt. Der Grundumsatz in dieser Periode belief sich durchschnittlich pro Kilogramm und Minute 4,20 ccm CO_2-Bildung und 5,38 ccm O_2-Verbrauch. Der durchschnittliche Wert des R.Q. betrug 0,799.

Es ergibt sich fast Übereinstimmung mit den Werten der normalen Vorperiode. Ich möchte besonders darauf hinweisen, daß an 2 zeitlich weit auseinanderliegenden Tagen, nämlich dem 31. VII. und dem 1. IX. die erhaltenen Werte fast vollständig übereinstimmen. Wir sehen aus diesen Versuchen, daß die Kombination zweier Eingriffe, Exstirpation der Milz und eisenarme Ernährung, innerhalb der Zeiten meiner Versuchsdauer keine Veränderung des respiratorischen Grundumsatzes erfordern. Diese Feststellung ist um so beachtenswerter, als wir aus den früheren Arbeiten des Berner Institutes wissen, daß gerade unter diesen Bedingungen das Hauptausfallssymptom des Fehlens der Milz am klarsten zutage tritt, nämlich die sehr gesteigerte Eisenausscheidung. Aber auch das andere Symptom ist allmählich zum Ausdruck gelangt, nämlich die Herabsetzung des Hämoglobingehaltes, wie meine Tabelle zeigt, in dem der anfänglich 97% betragende Hämoglobingehalt im Laufe der Zeit auf 80% heruntergiug. In dieser Beziehung verhält sich der Hund wie das Kaninchen, an dem Sollberger zeigte, daß die Milzexstirpation im Blutbild dann zum Ausdruck gelangt, wenn die Nahrung eisenfrei

ist In meiner Tabelle II finden sich auch die Angaben über die Jollykörper. Die vorher nicht vorhandenen Jollykörper waren dauernd nach der Milzexstirpation nachweisbar. Ich betrachte dies als ein sicheres Kriterium dafür, daß die Milz total exstirpiert war und keine Nebenmilzen übriggeblieben oder neu gebildet worden waren. Angesichts aller dieser Tatsachen bleibt nichts anderes übrig als zu dem Schlusse zu kommen, daß der Hund gegenüber der Milzexstirpation, was den Grundumsatz anlangt, viel resistenter ist als die Ratte. Wie resistent Tiere gegen langdauernden Eisenmangel sein können, haben ja auch die Versuche von Martin Benno Schmidt an Mäusen gezeigt, in denen erst in der 3. Generation die Folgen der eisenarmen Nahrung sich geltend machten.

Tabelle II.

Datum	Hämoglobin (Sahli) %	Jollykörper
2. VI. 1919	99	abwesend
7. VI. 1919	97	"
9. VI. 1919	Eisenarme Nahrung angefangen	
19. VI. 1919	96	—
29. VI. 1919	97	abwesend
2. VII. 1919	Entmilzung	
13. VII. 1919	97	++
20. VII. 1919	96	
24. VII. 1919	95	++
4. IX. 1919	85	
6. IX. 1919	80	
15. IX. 1919	80	++

Tabelle III.

Datum	Gerinnungszeit des Blutes
19. VI. 1919	Begann nach $1^1/_2$ Min. — fertig nach 3 Min.
4. IX. 1919	" " $1^3/_4$ " — " " 3 "

In Tabelle III finden sich Angaben über die Gerinnungszeit des Blutes. Die Entmilzung bringt keine Veränderung hervor.

Schlußfolgerungen.

1. Die Weglassung von Eisen und die Entmilzung haben keinen bedeutenden Einfluß auf den respiratorischen Gaswechsel eines Hundes.

2. Der Hämoglobingehalt des Blutes ist gegen diese Eingriffe sehr resistent und wird nur langsam herabgesetzt.

3. Das Fehlen der Milz und die eisenfreie Ernährung haben auf die Gerinnungszeit des Blutes keinen Einfluß.

Literatur.

Dubois, Über das Zusammenwirken von Milz, Schilddrüse und Knochenmark. Diese Zeitschr. **31**, 141. 1917. — Danoff, Der Einfluß der Milz auf den respiratorischen Stoffwechsel. Diese Zeitschr. **93**, H. 1 u. 2 — Duran, Das Verhalten von normalen, mit Schilddrüsensubstanz gefütterten und schilddrüsenlosen Ratten gegen reinen Sauerstoffmangel. Diese Zeitschr. **106**, 254. 1920. — Ebnöther, Fortgesetzte Beiträge zur Lehre von der Funktion der Milz. Das Zusammenwirken von Leber und Milz. Diese Zeitschr. **72**, 416. — Grossenbacher, Untersuchungen über die Funktion der Milz. Diese Zeitschr. **17**, 78. 1909. — Messerli, Das Verhalten des weißen Blutbildes beim normalen, schilddrüsenlosen und milzlosen Tier unter Einwirkung von Sauerstoffmangel. Diese Zeitschr. **97**, 40. 1919. — Streuli, Das Verhalten von schilddrüsenlosen, milzlosen, schilddrüsen- und milzlosen Tieren bei Sauerstoffmangel. Diese Zeitschr. **87**, 359. 1919. — Zimmermann, Fortgesetzte Beiträge zur Funktion der Milz als Organ des Eisenstoffwechsels. Diese Zeitschr. **17**, 297. 1902. — Yamada, Studien über die Blutgerinnung und über die Beziehungen zwischen Schilddrüse und Knochenmark, sowie Milz und Knochenmark. Diese Zeitschr. **87**, 273. 1918.

Vergleichende Untersuchungen über den Erfolg von Infusionen in eine Vene des großen Kreislaufes und in die Pfortader.

Von

Motoi Yamada.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Bern.)

(Eingegangen am 21. Juni 1921.)

Mit 8 Abbildungen im Text.

Ganz allgemein wird der Leber eine wichtige Rolle bei der Regelung der mechanischen Verhältnisse des Kreislaufes zugeschrieben und man nimmt an, daß die mechanische Leistung der Leber als ein dem Herzen vorgeschaltetes Organ, unter physiologischen und pathologischen Bedingungen nicht zu den unwesentlichsten Funktionen der Leber gehört. Bei physiologischen Versuchen tritt vor allem bei der Infusion von Salzlösungen die Beteiligung der Leber zutage, indem man beobachtet, daß bei der Infusion größerer Flüssigkeitsmengen die Leber bretthart wird. Das Verhalten der Leber bei Infusionen spielt auch eine gewisse Rolle in der Deutung der Vorgänge hinsichtlich der Lymphbildung, welche im Anschluß an die Infusionen beobachtet werden. Wenn auch nicht der mindeste Grund vorliegt, die große Bedeutung der Leber als eines dem Herzen vorgeschalteten Stauwehrs gegen zu große Überschwemmung mit Flüssigkeitsmengen zu bezweifeln, so liegt doch noch Veranlassung vor, die Verhältnisse näher zu untersuchen, weil die Art und Weise, wie die Leber hierbei wirkt, nicht hinreichend aufgeklärt ist.

Ich folgte daher der Anregung von Prof. Asher, eine Untersuchung darüber anzustellen, wie sich gewisse Verhältnisse des Kreislaufes gestalten, wenn man einmal eine Infusion in die Vena jugularis und das andere Mal eine solche unmittelbar in die Vena portae oder an einem Seitenzweig derselben ausführt. Im ersteren Falle verteilt sich die injizierte Flüssigkeit nach dem Durchtritt

durch das Herz und die Lunge sofort in den gesamten Kreislauf, im anderen Falle muß die ganze Flüssigkeit, ehe sie in den Kreislauf gelangt, erst die Leber passieren. Auf diese Weise konnte man hoffen, dasjenige, was die Leber hierbei leistet, etwas genauer beobachten zu können. Mein Hauptaugenmerk richtete ich auf das Verhalten des Hämoglobingehaltes bei den verschiedenen Infusionen. Der jeweilige Hämoglobingehalt liefert unter den Bedingungen, wie ich meine Versuche anstellte, einen zuverlässigen Maßstab über die Verdünnung, welche das Blut bei dem einen und anderen Verfahren erleidet. Somit würde man darüber Aufschluß erhalten, ob die Leber Flüssigkeit zurückhält oder nicht. Zweitens habe ich den mittleren Blutdruck bei meinen Versuchen registriert. Mit dieser einfacheren Beobachtungsart habe ich mich in meinen ersten Versuchen begnügt. In meinen späteren Versuchen bin ich dazu übergegangen, gleichzeitig die Harnmengen zu messen, welche während und nach der Infusion von Kochsalzlösung in den großen Kreislauf oder in den Pfortaderkreislauf abflossen. Welche Gesichtspunkte mich hierbei geleitet haben, will ich später erörtern.

In der ersten Hälfte meiner Versuche verwendete ich 3 Kaninchen und eine Katze. Das Verfahren war im allgemeinen folgendes:

Die Tiere wurden während der ganzen Versuchsdauer in Urethan bzw. Morphium-Äthernarkose gehalten. Eine Kanüle wurde in die Arteria carotis eingebunden und diente zur Blutdruckmessung. In die Vena jugularis kam eine Kanüle, welche zur Infusion diente. Beide Vagi wurden am Halse durchschnitten, um bei der späteren Operation in der Bauchhöhle jeden Schock zu vermeiden. In die Trachea wurde eine Trachealkanüle gebunden. Hierauf wurde die Bauchhöhle geöffnet und es wurden die Arteria coeliaca, mesenterica sup. und die Aorta descendens dicht unterhalb der Arteria renalis sinistra abgebunden. Hierauf kam eine Kanüle in den Hauptstamm der Vena portae. Durch die Abbindung der genannten Arterien der Peritonealhöhle wurde erreicht, daß ein hoher Blutdruck mit guter Herztätigkeit erhalten blieb, trotzdem die Vena portae abgebunden werden mußte, aus Gründen, die bekannt sind, weil man sich ja auch zu anderen Zwecken dieses Verfahrens bedient. Die in beiden Venen befindlichen Kanülen wurden mit Mariotteschen Flaschen verbunden. Bei dem Einlauf achtete ich darauf, daß der Druck und die Einlaufszeit bei jedem einzelnen Versuche möglichst wenig variiert. Durch Bestrahlung mittelst Glühlampen wurden die Tiere während der Versuchsdauer auf Körpertemperatur erhalten. Vor und nach jedem Eingriff wurde aus einem Ohrgefäße Blut entnommen, um mit Hilfe von Sahlis Hämometer den Hämoglobingehalt des Blutes zu bestimmen.

Tabelle I.

1. Versuch vom 6. Februar 1917.

Kaninchen Nr. 1 ♂, Körpergewicht 2000 g.

Zeit	Abgelaufene Zeit Min.	Dauer Min.	0,9% NaCl-Lösung in ccm infundiert: in Vena port.	0,9% NaCl-Lösung in ccm infundiert: in Vena jug.	Hämoglobingehalt %	Annahme des Hämoglobingehalts infolge der Infusion: bestimmt	Annahme des Hämoglobingehalts infolge der Infusion: %	Mittlerer Blutdruck in mm/Hg	Bemerkungen
$4^h\,20'$	—	—	—	—	78,5	—	—	—	Vor Infusion
$4^h\,35'$	15	—	—	—	—	—	—	117	
$4^h\,39'$ – $4^h\,42'$	19—22	3	26	—	72,0	−6,5	−9,0	120	I. Infusion in Vena port.
$4^h\,47'$ – $4^h\,48^1/_2'$	27—$28^1/_2$	$1^1/_2$	—	30	68,0	−4,0	−6,0	126	I. Infusion in Vena jug.
$4^h\,51'$	31	—	—	—	—	—	—	138	Pause
$5^h\,2'$	42	—	—	—	—	—	—	127	Pause
$5^h\,5'$	45	—	—	—	67,5	−0,5	−0,7	—	Pause
$5^h\,12'$ – $5^h\,14'$	52—54	2	26	—	61,0	−6,5	−11,0	140	II. Infusion in Vena port.
$5^h\,26'$	66	12	—	—	—	—	—	122	Pause
$5^h\,26^1/_2'$ – $5^h\,28^1/_2'$	$66^1/_2$—$68^1/_2$	2	—	30	60,0	−1,0	−1,7	135	II. Infusion in Vena jug.
$5^h\,30'$	70	—	—	—	—	—	—	142	Pause
$5^h\,32'$	72	—	—	—	—	—	—	147	Pause
$5^h\,49'$	89	—	—	—	—	—	—	124	Pause

Bei dem soeben geschilderten Verfahren sind natürlich die Einlaufsverhältnisse in die Leber durchaus keine normalen.

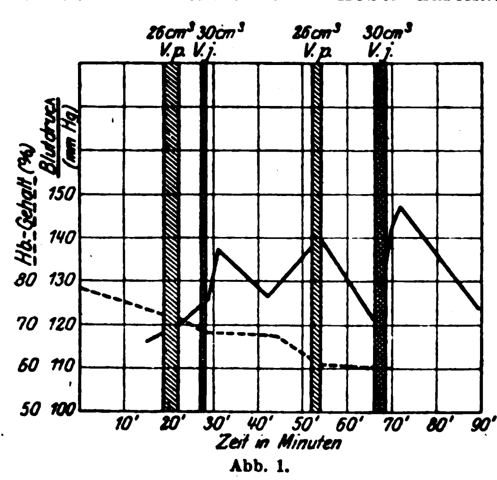


Abb. 1.

Denn durch den Eingriff ist die Leber vom Blutstrom abgesperrt, wodurch sich in zunächst nicht absehbarer Weise sowohl die mechanischen Verhältnisse in der Leber als auch die physiologischen Eigenschaften der Leberzellen verändern müssen. Die Resultate, die mit diesem Verfahren gewonnen werden können, lassen daher zunächst nur darüber einen Aufschluß erwachsen, wie sich die mehr oder weniger leere Strombahn in der Leber gegenüber einer sie passierenden Flüssigkeitsmenge verhält. Die Resultate der in ihrer Methode soeben beschriebenen ersten 4 Versuche habe ich in den Protokollen 1—4 niedergelegt und jedem

Tabelle II.

2. Versuch vom 9. Februar 1917.

Kaninchen Nr. 2 ♂, Körpergewicht 2250 g.

Zeit	Abgelaufene Zeit	Dauer	0,9% NaCl-Lösung in ccm infundiert		Hämoglobingehalt	Abnahme des Hämoglobingehaltes infolge der Infusion		Mittlerer Blutdruck in mm/Hg	Bemerkungen
	Minuten	Min.	in Vena port.	in Vena jug.	%	bestimmt	%		
4^h	—	—	—	—	65,0	—	—	131	Vor Infusion
$4^h\ 8'$ $4^h\ 9^1/_6{}'$	$8—9^1/_6$	$1^1/_6$	40	—	62,0	−3	−4,8	143	I. Infusion in Vena port.
$4^h\ 11'$	11	—	—	—	—	—	—	145	Pause
$4^h\ 15'$	15	—	—	—	—	—	—	134	Pause
$4^h\ 15^1/_2{}'$ $4^h\ 16^5/_6{}'$	$15^1/_2—16^5/_6$	$1^1/_3$	—	40	60,0	−2	−3,3	135	I. Infusion in Vena jug.
$4^h\ 17'$	17	—	—	—	—	—	—	137	Pause
$4^h\ 21'$	21	—	—	—	—	—	—	122	Pause
$4^h\ 25'$	25	—	—	—	57,0	−3	−5,0	—	Pause
$4^h\ 35'$	35	—	—	—	—	—	—	114	Pause
$4^h\ 37'$ $4^h\ 38^1/_3{}'$	$37—38^1/_3$	$1^1/_3$	40	—	55,0	−2	−3,6	125	II. Infusion in Vena port.
$4^h\ 44'$ $4^h\ 45^1/_3{}'$	$44—45^1/_3$	$1^1/_3$	—	40	55,0	0	0	131	II. Infusion in Vena jug.
$4^h\ 48'$	43	—	—	—	—	—	—	118	Pause
$4^h\ 52'$	52	—	—	—	—	—	—	108	Pause

Versuche eine kurvenmäßige Darstellung des Verhaltens von Hämoglobinmenge und von Blutdruck beigegeben. Es bedarf daher nur einer kurzen Schilderung des Wesentlichen an den Ergebnissen. Vergleicht man die

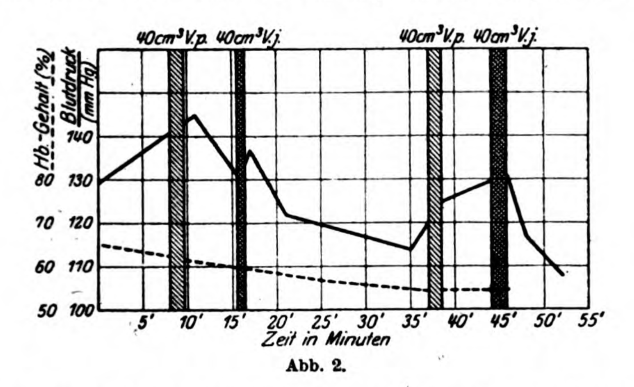


Abb. 2.

Verdünnung des Blutes nach der Infusion auf dem Wege der Vena portae und auf dem Wege der Vena jugularis, so ergibt sich, daß in den 3 am Kaninchen angestellten Versuchen in jedem Falle die Verdünnung nach Infusion unmittelbar in die Vena portae größer war. Zwar ist der Unterschied kein sehr großer, aber immerhin so, daß er merklich ist.

Tabelle III.

3. Versuch vom 16. Februar 1917.

Katze ♀, Körpergewicht 2000 g.

Zeit	Abgelaufene Zeit	Dauer	0,9% NaCl-Lösung in ccm infundiert		Hämoglobingehalt	Veränderung des Hämoglobingehaltes infolge der Infusion		Mittlerer Blutdruck in mm/Hg	Bemerkungen
	Minuten	Min.	in Vena port.	in Vena jug.	%	bestimmt	%		
$3^h\,41'$	—	—	—	—	75,0	—	—	184	Vor Infusion
$3^h\,46'$ $3^h\,51^1/_4'$	$5—10^1/_4$	$5^1/_4$	40	—	75,0	0	0	190	I. Infusion in Vena port.
$3^h\,58'$	17	—	—	—	—	—	—	171	Pause
$3^h\,59'$ $4^h\,4^1/_4'$	$18—23^1/_4$	$5^1/_4$	—	40	73,0	−2	−2,7	161	I. Infusion in Vena jug.
$4^h\,8'$	27	—	—	—	—	—	—	167	Pause
$4^h\,14'$ $4^h\,18^2/_3'$	$33—37^2/_3$	$4^2/_3$	40	—	73,0	0	0	169	II. Infusion in Vena port.
$4^h\,26'$	45	—	—	—	—	—	—	163	Pause
$4^h\,26^1/_2'$ $4^h\,31^1/_5'$	$45^1/_2—50^1/_5$	$4^7/_{10}$	—	40	73,0	0	0	154	II. Infusion in Vena jug.
$4^h\,38'$	57	—	—	—	—	—	—	162	Pause

Selbst wenn wir uns auf den Standpunkt stellen wollen, daß wir auf den genannten Unterschied kein großes Gewicht legen

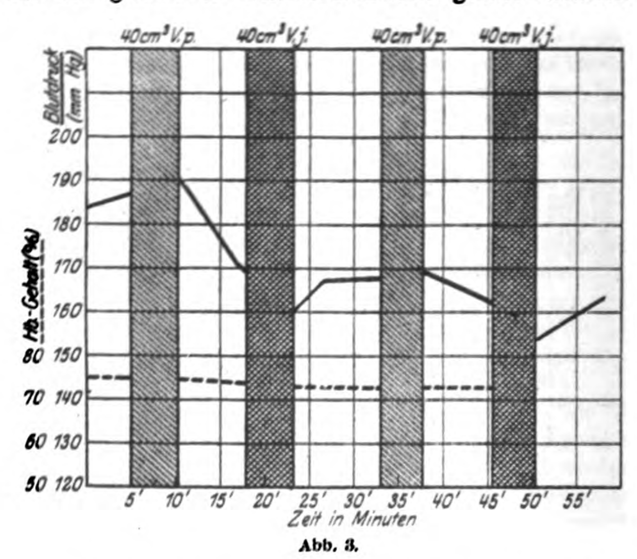


Abb. 3.

wollen, sondern die Dinge so betrachten, als ob in gleichen Fällen die Verdünnung eine gleich große wäre, bleibt der Sachverhalt hinreichend interessant. Denn es geht daraus hervor, daß

Tabelle IV.

4. Versuch vom 26. Februar 1917.

Kaninchen Nr. 4 ♂, Körpergewicht 1700 g.

Zeit	Abgelaufene Zeit	Dauer	0,9% NaCl-Lösung in ccm infundiert		Hämoglobingehalt	Veränderung des Hämoglobingehalts infolge der Infusion		Mittlerer Blutdruck in mm/Hg	Bemerkungen
	Minuten	Min.	in Vena port.	in Vena jug.	%	bestimmt	%		
$3^h\,54'$	—	—	—	—	70,0	—	—	120	Vor Infusion
$4^h\,3'$ – $4^h\,4\frac{1}{2}'$	$9-10\frac{1}{2}$	$1\frac{1}{2}$	40	—	65,0	−5	−7,7	131	I. Infusion in Vena port.
$4^h\,9'$	15	—	—	—	—	—	—	124	Pause
$4^h\,13'$ – $4^h\,14\frac{1}{6}'$	$19-20\frac{1}{6}$	$1\frac{1}{6}$	—	40	64,0	−1	−1,6	121	I. Infusion in Vena jug.
$4^h\,16'$	22	—	—	—	—	—	—	126	Pause
$4^h\,18'$ – $4^h\,19\frac{1}{6}'$	$24-25\frac{1}{6}$	$1\frac{1}{6}$	40	—	62,0	−2	−3,2	134	II. Infusion in Vena port.
$4^h\,28'$	34	—	—	—	—	—	—	125	Pause
$4^h\,33'$ – $4^h\,34\frac{3}{4}'$	$39-40\frac{3}{4}$	$1\frac{3}{4}$	—	40	—	—	—	119	II. Infusion in Vena jug.
$4^h\,35'$	41	—	—	—	—	—	—	129	
$4^h\,36\frac{3}{4}'$	$42\frac{3}{4}$	—	—	—	60,0	−2	−3,3	—	Blutentnahme für Hämoglobingeh.-Bestimmung verzögert.
$4^h\,37'$	43	—	—	—	—	—	—	126	

keinesfalls in der Leber ein Teil der Flüssigkeit zurückbehalten worden sei, sondern die Flüssigkeit hat einfach die Leber durchströmt, ohne daß die Leber eine Wirkung als Reservoir ausgeübt hätte. Nun fragt es sich, ob Momente vorhanden sind, die außer der Infusion auf die Konzentration des Blutes einen Einfluß gewinnen könnten und die etwa dergestalt beschaffen sein könnten, daß sie anderweitig einwirkende Einflüsse verwischen können. In

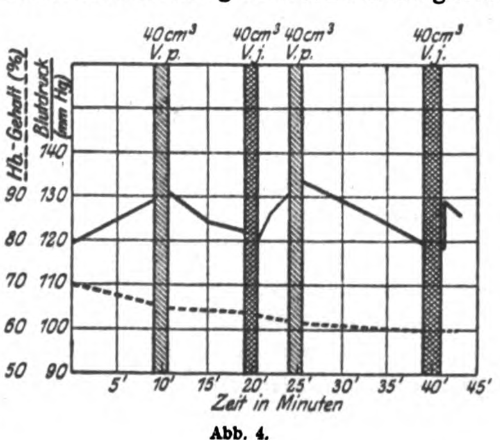


Abb. 4.

erster Linie wäre hier an den Blutdruck zu denken, und zwar deshalb, weil die Ansicht vertreten worden ist, daß Blutdruckerhöhung eine Konzentrierung, Blutdruckerniedrigung eine Blutverdünnung herbeiführen. Diese vielfach vertretene Ansicht ist zwar durch die Arbeiten von Asher und seinem Mitarbeiter Böhm widerlegt worden, was aber nicht hindert, daß dieselbe neuerdings wieder ohne hinreichende Experimentalkritik von F. H. Scott[1]) vertreten wird, der beispielsweise die Injektion von Adrenalin als eine einfache mechanische Blutdrucksteigerung behandelt, ohne zu bedenken, daß die Adrenalininjektion recht intensive Stoffwechselprozesse im Gefolge hat, die notwendigerweise zu einer Bluteindickung führen müssen. In meinen Versuchen nun ergibt die Berücksichtigung des Blutdruckes keine Erklärung für die durch die Hämoglobinbestimmung ermittelten Konzentrationsverhältnisse des Blutes, denn eine nähere Prüfung der Beziehung zwischen dem Blutdruck und den beiden verschiedenen Arten der Infusion ergibt, daß am ehesten von einer jedesmaligen kleinen Steigerung des Blutdruckes nach Infusion in die Vena portae gesprochen werden kann, eine Steigerung, welche gerade entgegengesetzt wirken müßte, als wie es tatsächlich der Fall ist. Wie wenig das mechanische Moment der reinen Blutdrucksteigerung oder Blutdruckerhöhung auf die Konzentration des Blutes wirkt, läßt sich selbst aus meinen Versuchen erkennen, beispielsweise aus dem Versuch Nr. 3 vom 16. II. 1917 an einer Katze. In diesem Versuch waren im Anfange die Höhen des Blutdruckes sehr groß, indem sie nicht weniger als 180—190 mm Hg betrugen, während am Ende des Versuches der Blutdruck auf 154 mm Hg gesunken war. Trotz dieser Tatsache und trotzdem 160 ccm Flüssigkeit im ganzen infundiert worden waren, hatte die Hämoglobinmenge nur um 2% im ganzen abgenommen. Aus allem diesen geht hervor, daß die Verhältnisse des Blutdruckes keinen Einfluß auf die Konzentration des Blutes ausgeübt haben können.

Es kann noch an eine andere Möglichkeit gedacht werden, die Verdünnung zu erklären, welche nach der Infusion auf dem Wege durch die Leber stattfindet. Es ist ja klar, daß die Verdünnung in der Vena jugularis keiner weiteren Erklärung bedarf. Man könnte nämlich annehmen, daß die Absperrung des Kreislaufes von der Leber eine Stagnation von Gewebsflüssigkeit in

[1]) F. H. Scott, Americ. Journ. of physiol. **44**, 298. 1917.

derselben herbeigeführt hätte; wenn dies der Fall wäre, könnte die Infusion nicht allein die Blutmenge um die infundierte Flüssigkeit vermehrt haben, sondern es könnte gleichzeitig ein Transport von Gewebsflüssigkeit aus der Leber stattgefunden haben. Diese Erklärung ist rein hypothetisch. Einfacher scheint es mir zu sein, anzunehmen, daß die Flüssigkeit einfach die Leber passiert habe und die Leber nicht als Flüssigkeitsreservoir zum Zurückhalten eines Teiles der Flüssigkeit gedient habe. Natürlich gilt diese Behauptung nur für die Bedingungen meiner Versuche und würde bedeuten, daß die Leber die Fähigkeit verloren habe, Flüssigkeitsmengen von der Größenordnung meiner Versuche aufzustapeln, wenn sie eine Zeitlang aus dem Kreislaufe ausgeschaltet worden ist. In dieser Fassung würden wir somit zu dem Schlusse gelangen, daß die Leber nicht auf einem rein mechanischen Wege als Stapelort oder Reservoir für in dieselbe eintretende Flüssigkeitsmengen dient.

In jedem Versuche wurden je 2 Infusionen in die Vena portae und je 2 in die Vena jugularis gemacht. Immer waren die Verdünnungen im Anfang größer als bei den späteren Infusionen. Dies erklärt sich wohl daraus, daß nach der ersten Infusion sehr bald ein Übertritt der injizierten Flüssigkeit in die Gewebsräume stattfindet. Der einmal geweckte Vorgang bleibt während der weiteren Versuchsdauer im Gange und seine Folgen interferieren mit denjenigen der Infusion.

Außerordentlich geringfügig ist der Einfluß der Infusion in Versuch Nr. 3, der an der Katze angestellt wurde. Von 4 Infusionen bewirkte nur eine einzige eine an der Verminderung des Hämoglobingehaltes merkliche Verdünnung des Blutes. Da gerade in diesem Versuche der Blutdruck ein sehr hoher war, könnten die Anhänger der Auffassung, daß bei hohem Blutdruck eine starke Filtration stattfindet, diese hier geltend machen. Wir wissen, daß diese Auffassung nicht zu Recht besteht. Man hat aber bei solchen Infusionen, wie ich sie in meinen Versuchen ausgeführt habe, die durchaus nicht gewaltsamer Natur waren, an einen Vorgang zu denken, auf den Asher[1]) zuerst hingewiesen hat. Er konnte nämlich durch Untersuchung der Lymphbildung zeigen, daß die Injektion von kleinen Flüssigkeitsmengen Tätigkeit der Organe weckt. Diese Tätigkeit der Organe geht aber Hand in

[1]) L. Asher, Zeitschr. f. Biol. 18 (N. F.), 261. 1898.

Hand mit einem vermehrten Flüssigkeitstransport aus den Blutcapillaren. Dergestalt kann es auf diese Weise wiederum zu einer Interferenz zwischen der blutverdünnenden Wirkung einer nicht zu großen Infusion und der bluteindickenden Wirkung der durch diese Injektion geweckten Organtätigkeit kommen. Gerade bei dem guten Zustande, in dem sich das Tier bei dem besagten Versuche befindet, dürfte der Einfluß der Organtätigkeit nicht zu unterschätzen sein.

Es schien jedenfalls notwendig, die bisher gemachten Erfahrungen dadurch zu erweitern, daß die Versuchsbedingungen mehr physiologisch gestaltet wurden. Hierzu war es erforderlich, das Versuchsverfahren so umzuändern, daß die Kreislaufsverhältnisse in der Leber möglichst wenig gestört wurden, d. h. daß die Infusionen in eine Leber stattfinden, welche in normaler Weise ihre arterielle und ihre venöse Versorgung erhielt. Hierzu war es erforderlich, Hunde zu benutzen, weil an diesen Tieren mit Leichtigkeit die genannten Bedingungen sich erfüllen ließen. Die Versuchsanordnung war im wesentlichen die gleiche wie am Kaninchen, nur mit dem Unterschiede, daß die ganze große Operation in der Bauchhöhle wegfiel und anstatt dessen nach Anbringung einer kleinen Öffnung in der Linea alba, die Milz hervorgezogen wurde. Nach Abbindung der arteriellen Gefäße zur Milz wurde in die Hauptvena linealis eine Kanüle eingebunden. Diese Kanüle diente nach ihrer Verbindung mit einer Mariotteschen Flasche zur Infusion in die Pfortader. Außerdem wurden, wie ich schon oben erwähnt habe, in die beiden Ureteren Kanülen eingebunden, durch ein Gabelrohr miteinander vereinigt und es wurde der Harn in graduierten Meßzylindern aufgefangen. Durch die gleichzeitige Bestimmung des gebildeten Harnes wollte ich ein weiteres Urteil darüber gewinnen, ob unter den mehr physiologischen Bedingungen der neuen Versuchsreihe ein Unterschied der Wirkungen der beiden Infusionsarten stattfände. Würde das Blut etwa bei dem einen Verfahren der Infusion mehr verdünnt als bei dem anderen, so könnte sich das in dem Grade der Harnbildung kundtun, da die Harnabsonderung ein sehr feines Reagens auf Blutverdünnung ist. Aber nicht dieser Umstand allein veranlaßte die Berücksichtigung der Harnabsonderung, sondern noch der weitere, daß daran zu denken war, daß die unmittelbare Infusion in die Leber zu einer vermehrten Harnbildung deshalb führen

könne, weil eine engere Verknüpfung zwischen Leber und Niere als zwischen der Niere und vielen anderen Organen stattfinde. Sollte etwa die direkte Infusion in die Leber eine Ausschwemmung harnfähiger Stoffe mit sich bringen, so wäre das ein Moment, welches fördernden Einfluß auf die Absonderung des Harnes besitzen würde.

Die von mir in den 4 Versuchen erhaltenen Ergebnisse teile ich in den Versuchsprotokollen 5–8 mit.

Wir haben zunächst die Verhältnisse der Blutverdünnung in den 3 Versuchen zu betrachten. Dieser Betrachtung haben wir die Versuche 5, 6 und 7 zugrunde zu legen, weil nur in diesen 3 Versuchen fortlaufend der Hämoglobingehalt bestimmt wurde. Ganz eindeutig sind die Ergebnisse in Versuch 6 und in Versuch 7, denn in beiden Versuchen, wo je eine doppelte Infusion in die Vena lienalis und in die Vena jugularis gemacht wurde, ergab sich eine sehr viel größere Verdünnung bei der Infusion auf dem Wege durch die Vena jugularis. In Versuch 6 betrugen die Verdünnungen bei Infusion in die Vena jugularis im Maximum 12 bzw. 15%. Dem stehen die geringen Verdünnungen bei Infusion in die Vena lienalis von 1,9 und 2,2% gegenüber. In Versuch 7 betragen die Verdünnungen bei Infusion in die Vena jugularis 26 und 31%, während bei Infusion in die Vena lienalis gar keine Verdünnung bei der ersten Infusion und nur 1,7% bei der zweiten Infusion feststellbar ist. Die injizierten Flüssigkeitsmengen sind in beiden genannten Versuchen durchaus nicht unerheblich, nämlich 150 ccm. Dabei ist die Zeit der Infusion eine sehr kurze. Um so entschiedener geht aus den mitgeteilten Zahlen hervor, daß unter den neuen Versuchsbedingungen tatsächlich ein sehr großer Unterschied besteht, je nach dem Wege, auf welchem die Flüssigkeit in den Kreislauf gelangt. Bei diesen, unter physiologischen Bedingungen angestellten Versuchen, verhindert die Leber eine momentan eintretende Verdünnung des Blutes.

Im Versuch 5 verlaufen die Dinge insofern etwas anders, als zwar bei der ersten Infusion auf dem Wege der Vena lienalis gar keine Verdünnung des Blutes eintritt, (während bei der nachfolgenden Infusion auf dem Wege der Vena jugularis eine Verdünnung von über 5% eintritt. Aber bei der zweiten Infusion in die Vena lienalis tritt eine Blutverdünnung von 14,5% ein, der bei der darauffolgenden Infusion in die Vena jugularis nur eine

Tabelle V.

V. Versuch vom 18. Mai 1917.

Hund Nr. 1 ♀; Körpergewicht 6,250 g.

Zeit	Abgelaufene Zeit	Dauer	0,9% NaCl-Lösung in ccm infundiert		Harnabsonderung			Hämoglobingehalt			Mittlerer Blutdruck in	Bemerkungen
									Differenz			
	Min.	Min.	in Vena lien.	in Vena jug.	bestimmt ccm	für 30 Min. berechnet ccm	Differenz %	%	bestimmt	%	mm/Hg	
4h 10′	—	—	—	—	—	—	—	82,0	—	—	—	Vor Infusion.
4h 15′	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	99	
4h 17′ – 4h 19′	7—9	2	175	—	—	—	—	82,0	0	0	94	I. Infusion in V. lien.
4h 36′	26	—	—	—	—	—	—	79,0	−3	−3,8	—	Pause
4h 19′ – 4h 39′	9—29	20	—	—	10,0	15,0	—	—	—	—	—	
4h 44′	34	—	—	—	—	—	—	—	—	—	101	
4h 45′ – 4h 47′	35—37	2	—	170	—	—	—	75,0	−4	−5,3	101	I. Infusion in V. jug.
4h 47′ – 5h 7′	37—57	20	—	—	13,6	20,4	+26,4	71,0	−4	−5,6	109	Pause
5h 12′ – 5h 14′	62—64	2	175	—	—	—	—	62,0	−9	−14,5	121	II. Infusion in V. lien.
5h 14′ – 5h 34′	64—84	20	—	—	32,0	48,0	+33,3	59,0	−3	−5,1	131	Pause
5h 46′	96	—	—	—	—	—	—	—	—	—	130	
5h 47′ – 5h 49′	97—99	2	—	175	—	—	—	55,0	−4	−7,3	135	II. Infusion in V. jug.
5h 49′ – 6h 9′	99—119	20	—	—	38,0	57,0	+15,8	53,0	−2	−3,8	149	

Verdünnung von 7,3% gegenübersteht. Ich glaube, daß es sich hier nur um eine Annahme handelt, die verschiedene Ursachen haben kann. Es wird meines Erachtens kein Fehler begangen, wenn diese einzige Ausnahme nicht mit in Betracht gezogen wird.

Was die Blutdruckverhältnisse anbelangt, so stehen sie in keinerlei erkennbaren Beziehung zu dem Verhalten der jeweiligen Verdünnung des Blutes. Beispielsweise beträgt in Versuch 6 die Höhe des Blutdruckes während der ersten Infusion in die Vena jugularis und während der zweiten Infusion in die Vena lienalis 144 bzw. 140 mm Hg. Praktisch ist also der Blutdruck in beiden Fällen gleich. In Versuch Nr. 5 beträgt der Blutdruck während der Infusion in die Vena lienalis 94 mm Hg, ohne daß es zur Blut-

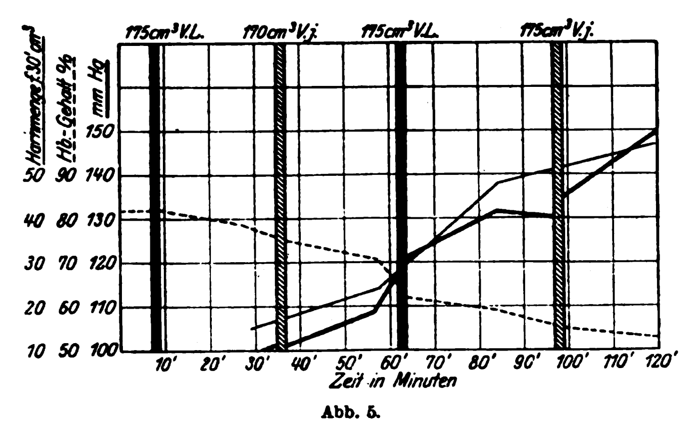


Abb. 5.

verdünnung kommt. Hingegen 101 mm Hg und 121 mm Hg, wo es zu Blutverdünnungen von 5,3% bzw. 14,5% kommt. Bei derartig regellosen Beziehungen wird man sich nicht dazu verstehen können, wo zufällig ein gewisser Parallelismus zwischen größerer Höhe des Blutdruckes und geringerer Blutverdünnung besteht, dieser Beziehung eine Bedeutung einzuräumen. Es muß daher bei der Annahme bleiben, daß in der Leber Geschehnisse stattfinden, welche verhindern, daß die Infusion auf dem Wege durch die Leber zu einer ebenso großen Blutverdünnung führt wie die gleiche Infusion in eine Körpervene. Die zunächstliegende Annahme ist dabei die, daß die normal versorgten Leberzellen in der Lage sind, einen Teil der Flüssigkeit aufzunehmen. Eine Schwierigkeit ist bei dieser Annahme vorhanden. Aus

Tabelle VI. 6. Versuch vom 22. Mai 1917.

Hund Nr. 2 ♀, Körpergewicht 12500 g.

Zeit	Abgelaufene Zeit Min.	Dauer Min.	0,9% NaCl-Lösung in ccm infundiert: in Vena lien.	in Vena jug.	Harnabsonderung: bestimmt ccm	für 30 Min. berechnet ccm	Differenz %	Hämoglobingehalt: %	Differenz: bestimmt	Differenz: %	Mittlerer Blutdruck in mm/Hg	Bemerkungen
4h 06′	—	—	—	—	—	—	—	112	—	—	—	Vor Infusion
4h 06′ 4h 15′	0—9	9	—	—	2,3	7,7	—	—	—	—	—	Vor Infusion
4h 16′	10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	145	Vor Infusion
4h 17′ 4h 22′	11—16	5	150	—	—	—	—	110	−2	−1,8	136	I. Infusion in Vena lien.
4h 22′ 4h 31′	16—25	9	—	—	7,5	25,0	+69,2	108	−2	−1,9	—	Pause
4h 42′ 4h 51′	36—45	9	—	—	5,0	16,7	−50,0	—	—	—	—	Pause
4h 54′ 4h 58′	48—52	4	—	150	—	—	—	98	−10	−12,0	144	I. Infusion in Vena jug.
4h 58′ 5h 07′	52—61	9	—	—	14,0	46,7	+64,2	95	−3	−3,2	—	Pause
5h 07′ 5h 16′	61—70	9	—	—	14,7	49,0	+ 4,7	—	—	—	144	Pause
5h 16′ 5h 20′	70—74	4	150	—	—	—	—	93	−2	−2,2	140	II. Infusion in Vena lien.
5h 20′ 5h 29′	74—83	9	—	—	18,5	61,0	+20,6	92	−1	−1,1	—	
5h 29′ 5h 52′	83—105	23	—	—	34,5	45,0	−27,1	—	—	—	147	
5h 55′ 5h 59′	108—112	4	—	150	—	—	—	80	−12	−15,0	152	II. Infusion in Vena jug.
5h 55′ 6h 04′	108—117	9	—	—	23,5	78,3	+ 41,1	—	—	—	—	
6h 04′ 6h 13′	117—126	9	—	—	18,9	63,0	− 19,5	-	—	—	140	

Versuchen von Demoor[1]) wissen wir, daß die Durchströmung der Leber mit isotonischen Lösungen zu keiner plethysmographisch erkennbaren Volumvergrößerung der Leber führt. Dieses negative Ergebnis wird ja von Demoor benutzt, um die Isotonie der betreffenden Lösung festzustellen. Das Nichteintreten der Volumenvergrößerung der Leber bei Durchströmung von isotonischen Lösungen schafft auch eine Schwierigkeit für die Annahme, daß in den Gewebe- und Lymphspalten der Leber eine größere Flüssigkeitsmenge sich anstaut. Natürlich gelten diese Betrachtungen

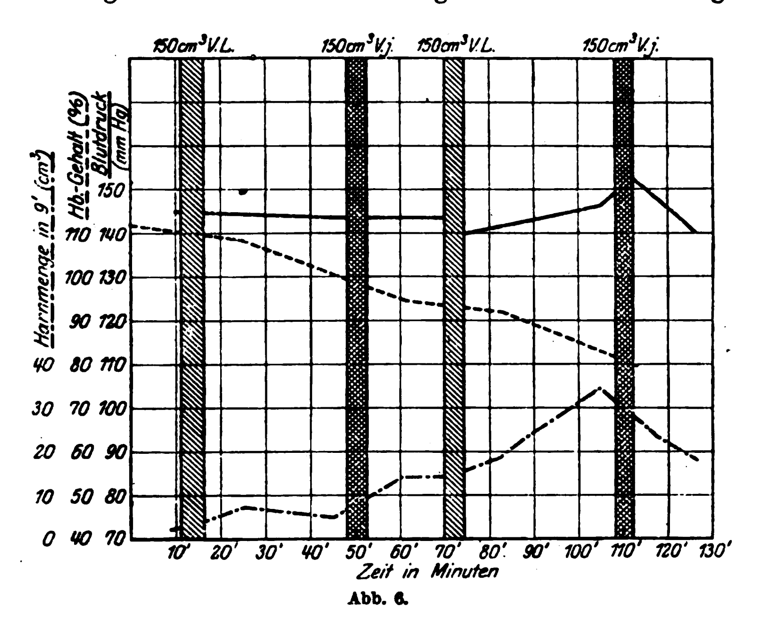


Abb. 6.

nur, wenn nicht übermäßige Mengen sehr rasch infundiert werden, wobei die Regulationsmittel, über welche der Organismus verfügt, versagen.

Die geschilderten Schwierigkeiten waren eine wesentliche Veranlassung, um, wie ich schon oben erwähnte, den Einfluß der beiden Infusionsarten auf die Harnabsonderung mit zu untersuchen. Denn wenn man eine Beziehung zwischen Leber und Niere aus guten Gründen für möglich erachtet, muß man daran denken, daß die Harnabsonderung je nach der Infusionsart verschieden

---

[1]) Demoor, Travaux de Laborat. de Physiol. de l'Institut solvay, 7, 1905.

Tabelle VII.

7. Versuch vom 1. Juni 1917.

Hund Nr. 3 ♂, Körpergewicht 7120 g.

Zeit	Abgelaufene Zeit	Dauer	0,9% NaCl-Lösung in ccm infundiert		Harnabsonderung			Hämoglobingehalt			Mittlerer Blutdruck in	Bemerkungen
			in Vena lien.	in Vena jug.	bestimmt	für 30 Min. berechnet	Differenz	%	Differenz bestimmt	Differenz %		
	Minuten	Min.			ccm	ccm	%				mm/Hg	
4^h 14′	—	—	—	—	—	—	—	101	—	—	—	Vor Infusion
4^h 16′	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	123	Vor Infusion
4^h 32′ / 4^h 36′	18—22	4	—	150	—	—	—	80	−21	−26,3	129	I. Infusion in Vena jug.
4^h 35′ / 4^h 40′	17—22	5	—	—	1,9	11,4	—	—	—	—	—	Pause
4^h 45′	27	—	—	—	—	—	—	—	—	—	144	Pause
4^h 51′ / 4^h 55′	33—37	4	150	—	—	—	—	80	0	0	146	I. Infusion in Vena lien.
4^h 54′ / 4^h 59′	36—41	5	—	—	2,9	17,4	+34,5	—	—	—	—	Pause
5^h 6′ / 5^h $10^1/_2$′	48—$52^1/_2$	$4^1/_2$	—	150	—	—	—	61	−19	−31,1	121	II. Infusion in Vena jug.
5^h 11′ / 5^h 16′	53—58	5	—	—	3,0	18,0	+3,3	—	—	—	—	Pause
5^h 19′ / 5^h 23′	61—65	4	150	—	—	—	—	60	−1	−1,7	136	II. Infusion in Vena lien.
5^h 24′ / 5^h 29′	66—71	5	—	—	5,0	30,0	+40,0	—	—	—	140	

sein könnte. Das ist nun in der Tat der Fall. Wir haben gesehen, daß nach Infusion in die Vena jugularis die Blutverdünnung größer war als nach Infusion in die Vena portae. Wegen dieser größeren Verdünnung müßte nach allem, was wir wissen, die Harnabsonderung im ersteren Falle größer sein. Und selbst wenn sie gleich wäre, würde es eben wegen des Unterschiedes in der Verdünnung einen Unterschied bedeuten. Nun lehren die Ergebnisse meiner Versuche, daß entweder die Harnabsonderung nach Infusion in die Vena lienalis gleichgroß oder sogar größer war als nach Infusion in die Vena jugularis. Beispielsweise beträgt die Vergrößerung der Harnabsonderung in Versuch 8 nach der ersten Infusion in die Vena lienalis 56,5%, während sie nach der ersten Infusion in die Vena jugularis, die im übrigen die nachfolgende war, nur 38,8% betrug. Nach der zweiten Infusion in die Vena lienalis beläuft sich die prozentische Vermehrung der Harnabsonderung auf 67,5%, demgegenüber nach der zweiten Infusion in die Vena jugularis nur eine solche von 32,5% steht. Genau das gleiche zeigt der Versuch

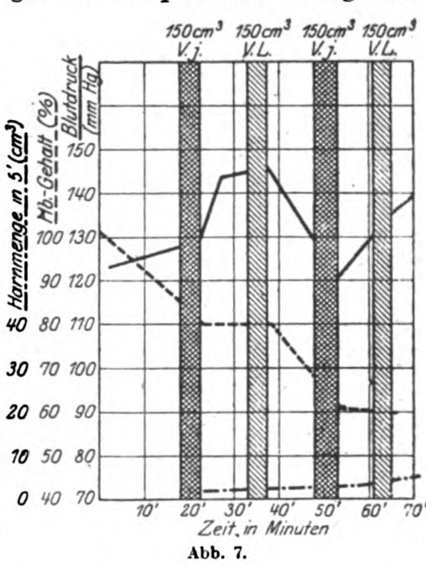


Abb. 7.

Nr. 7, wo jedesmal die prozentische Steigerung der Harnabsonderung wesentlich größer nach Infusion in die Vena lienalis war. Auch in Versuch 5 überwiegt die harnvermehrende Wirkung der Infusion in die Vena lienalis. In Versuch 6 liegen die Verhältnisse nicht so absolut eindeutig wie in den anderen Versuchen. Aber wenn man nur die zweite Hälfte des Versuches heranzieht, so hat wiederum die Infusion in die Vena lienalis die entschieden stärkere harntreibende Wirkung. Das Ergebnis des ersten Teiles des Versuches ist aber jedenfalls so, daß es der bisher aufgestellten Regel nicht widerspricht. Hier haben wir nun ein Moment, welches sehr gut erklären könnte, weshalb die unter normalen Bedingungen stattfindende nicht

Tabelle VIII. 8. Versuch vom 12. Juni 1917.

Hund Nr. 4 ♀, Körpergewicht 12,050 g.

Zeit	Abgelaufene Zeit Min.	Dauer Min.	0,9 % NaCl-Lösung in ccm infundiert: in Vena lien.	0,9 % NaCl-Lösung in ccm infundiert: in Vena jug.	Harnabsonderung: bestimmt ccm	Harnabsonderung: für 30 Min. berechnet ccm	Harnabsonderung: Differenz %	Mittlerer Blutdruck in mm/Hg	Bemerkungen
4h 17′ – 4h 27′	0—10	10	—	—	3,0	9,0	—	117	Vor Infusion
4h 28′ – 4h 38′	11—21	10	—	—	3,7	11,1	+18,9	119	
4h 41′ – 4h 46′	24—29	5	150	—	—	—	—	125	I. Infusion in Vena lien.
4h 46½′ – 4h 56½′	29½—39½	10	—	—	8,5	25,5	+56,5	127	Pause
4h 57′ – 5h 07′	40—50	10	—	—	5,5	16,5	−54,5	123	
5h 08′	51	—	—	—	—	—	—	121	
5h 09′ – 5h 14′	52—57	5	—	150	—	—	—	129	I. Infusion in Vena jug.
5h 14′ – 5h 24′	57—67	10	—	—	9,0	27,0	+38,8	130	Pause
5h 25′ – 5h 35′	68—78	10	—	—	6,5	19,5	−38,5	128	
5h 37′ – 5h 42′	80—85	5	150	—	—	—	—	135	II. Infusion in Vena lien.
5h 42′ – 5h 52′	85—95	10	—	—	20,0	60,0	+67,5	140	Pause
5h 53′ – 6h 03′	96—106	10	—	—	21,0	63,0	+4,8	140	
6h 09′ – 6h 19′	112—122	10	—	—	17,0	51,0	−23,5	137	
6h 20½′ – 6h 30½′	123½—133½	10	—	—	13,5	40,5	−26,0	139	
6h 34′ – 6h 39′	137—142	5	—	150	—	—	—	144	II. Infusion in Vena jug.
6h 38′ – 6h 48′	141½—151½	10	—	—	20,0	60,0	+32,5	155	Pause
6h 42′ – 6h 59′	152—162	10	—	—	16,6	49,8	−20,5	145	

übermäßige Infusion in die Vena lienalis eine geringere Blutverdünnung herbeiführt als die Infusion in die Vena jugularis. Dieses Moment ist die größere Harnabsonderung. Da nun bei der Infusion in die Vena lienalis die Blutverdünnung, die an und für sich schon harntreibend wirkt, größer ist, muß die direkte Infusion in die Leber in derselben Prozesse anregen, die dann besonders auf die Niere zu wirken mögen. Es liegt nahe anzunehmen, daß durch die unmittelbare Infusion in die Leber mehr harn-

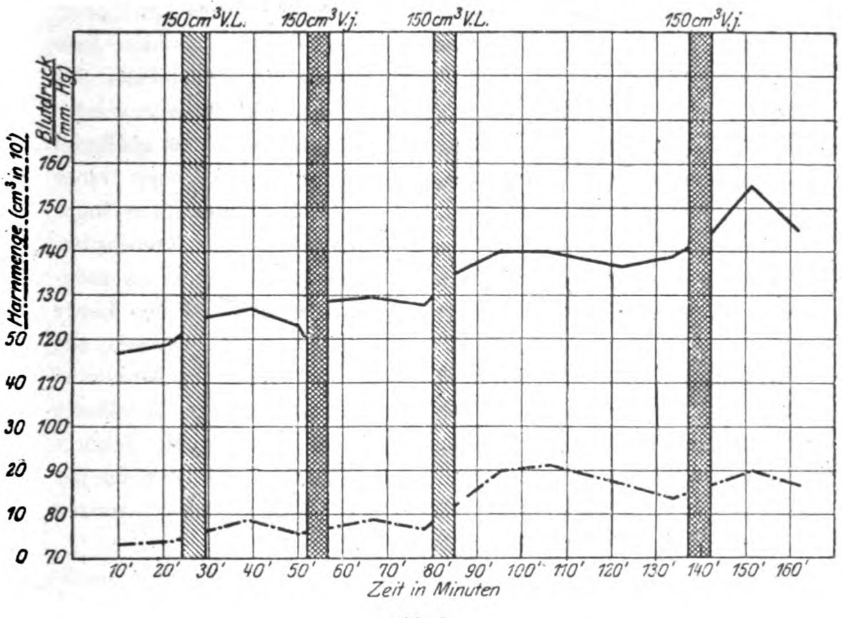


Abb. 8.

fähige Stoffe in das Blut gelangen, sei es, daß dieselben nur ausgeschwemmt werden, sei es, daß eine größere Anregung zur Bildung derselben in der Leber stattfindet.

Die Erklärung, die ich soeben gegeben habe, würde vollständig von der Annahme abzusehen gestatten, daß die Leber irgendwie erhebliche Anteile der infundierten Flüssigkeit zurückhält. Auf diese Weise wäre eine Übereinstimmung mit den früheren Versuchen erzielt, die ich als weniger physiologisch habe ansprechen müssen, und wo unzweifelhaft keine Zurückhaltung der infundierten Flüssigkeit in der Leber zu bemerken war. Bei dieser Erklärung der Verhältnisse entsteht eine neue Schwierig-

keit, nämlich die, daß erklärt werden muß, weshalb man bei Infusion nicht bloß unmittelbar in die Leber, sondern sogar in den großen Kreislauf eine Schwellung und Härte der Leber beobachtet, die beweist, daß eine größere Flüssigkeitsansammlung nicht durchaus darauf beruht, daß die infundierte Flüssigkeit zum Teile in der Leber deponiert wird. Sie könnte ebensogut darauf beruhen, daß die Infusionen eine erhöhte Lebertätigkeit herbeiführen, die ihrerseits stark gesteigerte Lymphbildung im Gefolge hat. Der Sachverhalt wäre hier ähnlich wie beispielsweise bei der Speicheldrüse, wo bei erhöhter Tätigkeit auch ohne jede Infusion eine pralle Schwellung der Drüse sich ausbildet. Es könnte aber auch sein, daß in meinen Versuchen, die von relativ kurzer Dauer waren, zunächst einmal das Moment der größeren Harnabsonderung bewirkt hätte, daß anfänglich nach einer unmittelbaren Infusion in die Leber die Blutverdünnung geringer ist als nach einer Infusion in eine Vene des großen Kreislaufes. Hätten aber meine Versuche länger gedauert, so wäre es möglicherweise zu einer Aufstapelung von Flüssigkeit in der Leber gekommen. Es wird Aufgabe neuer Arbeiten sein müssen, die Verhältnisse, die doch verwickelter liegen als dem ersten Anscheine nach gedacht werden könnte, weiter aufzuklären. Vorläufig scheint mir für die Bedingungen meiner Versuche die Schlußfolgerung nicht ungerechtfertigt, daß nicht notwendigerweise die Leber primär Flüssigkeit, die innerhalb physiologischer Grenzen in den Kreislauf gelangt, aufstapeln müsse.

Die wesentlichen Ergebnisse meiner Arbeit sind die nachfolgenden:

1. Vergleicht man die Ergebnisse der Infusion von physiologischer Kochsalzlösung in eine Vena jugularis mit derjenigen einer Infusion in die Leber, wobei die Leber aus versuchstechnischen Gründen aus dem Kreislauf ausgeschaltet ist, und die Infusion direkt in die Pfortader stattfindet, so zeigen sich, beurteilt nach dem Grade der Blutverdünnung, keine Unterschiede. Die Leber hält demnach auf Grund ihrer strukturellen Verhältnisse nicht notwendigerweise Flüssigkeit zurück.

2. Vergleicht man mit der Infusion in eine Vena jugularis diejenige in einen Seitenzweig der Pfortader, z. B. in eine Vena lienalis bei einem Hund, wobei im übrigen die normalen Verhältnisse erhalten blieben, so zeigt sich eine merklich geringere Ver-

dünnung des Blutes nach der Infusion unter sonst gleichen Bedingungen in einen Seitenzweig der Pfortader.

3. Bei der letzteren Versuchsanordnung gibt es, trotz größerer Blutverdünnung nach Infusion in die Vena jugularis eine stärkere Harnabsonderung nach Infusion in einen Zweig der Pfortader. Die physiologische Tatsache, welche ihre Ursache entweder in einer stärkeren Ausschwemmung oder einer vermehrten Bildung harnfähiger Stoffe in der Leber haben könnte, würde den Unterschied in dem Umfange der Blutverdünnung bei den beiden Infusionsarten erklären. Dazu könnte noch eine vermehrte Lymphbildung infolge der gesteigerten Lebertätigkeit kommen.

4. Die Verhältnisse des Blutdruckes tragen nichts zur Erklärung der beobachteten Unterschiede bei.

I. Kultur-Versuche mit Soja-Bohnen. II. Vorkommen von Urease in anderen Pflanzenteilen als in Samen.

Von

D. H. Wester, den Haag (Holland).

(Eingegangen am 23. Juni 1921.)

I. Zusammen mit Herrn Cunaeus habe ich im Versuchsgarten des Niederländischen Vereins für Heilkräuterkultur in Delft (Laboratorium des Herrn Prof. Dr. G. van Itterson) in kleinem Maßstabe einige Versuche über die Kulturmöglichkeit von Sojabohnen in Holland vorgenommen.

Das erstemal (1917) wurden die Bohnen spät gesät, nämlich im Juni. Die Pflanzen entwickelten sich sehr gut, trugen viele Blüten und Früchte, waren aber im Herbste noch nicht reif. Zum Nachreifen wurden die Pflanzen aus der Erde genommen und an einem trockenen Orte aufgehängt. Dadurch wurden Samen von normalem Aussehen und normaler Zusammensetzung erzielt. Im Jahre 1918 wurde viel früher gesät. Die Ernte war schwächer als 1917 und auch in diesem Falle waren die Samen im Herbst noch nicht ganz reif.

Das Durchschnittsgewicht der Bohnen eigener Ernte war im Jahre 1917 142 mg, im Jahre 1918 175 mg.

Zusammensetzung	Wasser %	Kohlenhydrate %	Eiweiß*) %	Fett %	Asche %	Harnstoffzahl**) %
Ausgangsmaterial . . .	10,1	31,6	31,4	17,6	5,2	32,2
Eigene Ernte 1917 . .	9,7	32,06	31,2	18,07	6,1	30,9
Eigene Ernte 1918 . .	10,1	31,4	35,2	18	5,7	31,6

*) Roheiweiß nach Kjeldahl, Codex alimentarius (Holland).

**) Man sehe über die Bedeutung dieser Zahlen meine früheren Mitteilungen über Soja und Urease: Pharm. Centralhalle 1916. (Hier wird irrtümlicherweise von Harnsäure statt Harnstoff gesprochen!) Ber. d. d. pharm. Ges. 1920. 163—175; Pharm. Centralh. 1920, 293—295 und Pharm. Centralhalle 1920. 377—385.

Im Jahre 1918 lieferte eine große Sojapflanze 66 Samen mit einem Totalgewicht von 11,65 g. Eine Pflanze von mittlerer Größe ergab 48 Samen = 9,1 g und die 37 Samen einer kleinen

Pflanze wogen zusammen 6,04 g. Diese Ausbeuten sind also nicht sehr befriedigend. Wohl ist auffallend und hervorzuheben, daß die quantitative Zusammensetzung der auf holländischem Boden gezüchteten Bohnen beider Jahrgänge mit derjenigen des asiatischen Ausgangsmaterials fast gleich ist.

Im Jahre 1919 wurden von Herrn Cunaeus folgende Varietäten gesät.

1.	Soja	hispida		Delft (eigene Ernte 1917 → 1918 →)
2.	„	„	nigra	„
3.	„	„		Java
4.	„	„	nigra	„
5.	„	„		Madrid
6.	„	„	lutea	„
7.	„	„	nigra	Hohenheim
8.	„	„	Sangora	„
9.	„	„	brunea	Wageningen
10.	„	„	lutescens	„
11.	„	„	nigra	„
12.	„	„	Sangora	Bern.

Am 19. IV. wurde in Glaskästen ausgesät. Am 2. VI. wurden die jungen Pflanzen ins Freie verpflanzt. Sie blühten in folgender chronologischer Reihenfolge:

Nr. 8 am 4. VIII; 9 am 7. VIII.; 11 am 9. VIII.; 10 am 15. VIII.; 5 am 16. VIII.; 7 am 23. VIII.; 3 am 23. VIII.; 1 am 25. VIII.; 2 am 25. VIII.; 4 am 25. VIII.; 6 am 30. VIII. und 12 am 30. VIII. — Genau dieselbe Reihenfolge, also 8, 9, 11, 10, 5, 7, 3, 1, 2, 4, 6, 12 wurde erzielt, wenn wir sie nach dem Ernteertrag[1]) ordnen.

Im Jahre 1920 wurden dieselben und außerdem noch die folgenden Varietäten gezüchtet:

13.	Soja	hispida		Bonn
14.	„	„		Kassel
15.	„	„		Zagrab
16.	„	„	nigra	Bern
17.	„	„	Sangora	Bazel
18.	„	„	schwarze	100tägige, Bazel
19.	„	ochroleuca		Bazel.

In diesem Jahre wurde am 16. IV. gesät, am 4. VI. in die Erde verpflanzt. Sofort danach hatten die jungen Pflanzen durch Stürme gelitten, wodurch die ganze Kultur ungünstig beeinflußt

[1]) Mittlere Anzahl Bohnen pro Pflanze.

wurde. Auch jetzt blühte wieder Nr. 8, Soja hispida Sangora, Hohenheim zuerst — 18. VII. — und gab schließlich noch eine ziemlich befriedigende Ausbeute.

Mit dieser Art werden die Versuche fortgesetzt. Es soll versucht werden, die am frühesten blühenden Exemplare auszuwählen und zu züchten.

Das Ergebnis unserer Beobachtung kann dahingehend zusammengefaßt werden, daß die bisherigen Resultate nicht sehr ermutigend sind. Der Ernteertrag ist in unserem Klima so sehr von den Witterungsverhältnissen abhängig, daß eine Kultur immer riskant bleibt. Die meisten Arten liefern bei uns keine reifen Samen. Im Verhältnis zum Ernteertrag anderer Leguminosen Arten ist derjenige unserer Sojabohnenkulturen sehr ungünstig zu nennen.

Im Zusammenhang mit diesen Resultaten kann auf 2 in den Kriegsjahren erschienene Broschüren von Fürstenberg[1]) verwiesen werden, in welchen erwähnt wird, daß schon in den Jahren 1870—1880 auf Veranlassung von Prof. Fr. Haberlandt erfolgreiche Kulturversuche mit Sojabohnen gemacht wurden. Auch in Holland sollten sie damals angepflanzt sein. Ich habe darüber leider nichts Näheres erfahren können. Jedenfalls ist der damalige Versuch, die Sojabohnenkultur in Europa einzubürgern, erfolglos geblieben. Es ist zu befürchten, daß Fürstenberg nicht mehr Erfolg haben wird. Zwar bilden die Sojabohnen unzweifelhaft ein wertvolles Nahrungsmittel, wie aus untenstehender Tabelle hervorgeht:

	Eiweiß %	Kohlenhydrate %	Fett %	Asche %
Sojabohnen	31,4	31,6	17,6	5,2
Canavaliabohnen	25,1	53,6	3,3	2,9
Erbsen	22,72	—	2,01	2,57
Bohnen	23,9	49,3	1,6	3,2
Gelbe Lupinen	35,32	—	4,97	3,78

aber:

1. ist vorläufig die Kultur von Sojabohnen in unserem Klima mit vielen Schwierigkeiten verknüpft und bringt geringen Ertrag; 2. steht der Meinung Fürstenbergs, der die Einführung der

[1]) Fürstenberg, Die Einführung der Soja, eine Umwälzung in der Volksernährung. Berlin 1916 und: Die Soja eine Kulturpflanze der Zukunft usw. Berlin 1917.

Sojabohnen tendenziös als eine Umwälzung in der Volksernährung bezeichnet, die von Prinsen Geerligs u. a. gegenüber, der die Bohnen als unschmackhaft und schwer verdaulich verwirft[1]). Jedenfalls bleibt aber der Wert dieser Bohne als Ölsamen, ihres Preßkuchens als Viehfutter und ihrer vielen wertvollen Präparate unbestritten[2]).

II. Im Jahre 1918 wurden Samen der „Ernte 1917 Delft" auf einem Teller mit dünner Watteschicht gelegt. Die Watte wurde fortdauernd mit Wasser feucht gehalten. Als die jungen Pflanzen 10—13 cm hoch waren — die ersten 2 Blättchen hatten sich schon gut entwickelt — wurden sie in 4 Teile geschnitten:

a) Die Wurzel, b) der Stengelteil von Wurzel bis zu den Samenlappen, c) die Samenlappen, d) der darüber hinausragende Stempelteil mit den zwei Blättchen.

Von b) und c) wurde 1 g des getrockneten Materials mit 50 ccm Wasser maceriert. 40 ccm des Filtrats wurden mit 5 ccm 2 proz. Harnstofflösung gemischt, bis auf 50 ccm aufgefüllt und bei 20° belassen. Von a) und d) war nicht genügend Material vorhanden, um dieses Verhältnis innezuhalten. Nach einer gewissen Anzahl Stunden wurde titrimetrisch festgestellt, wieviel des zugesetzten Harnstoffs sich in Ammoncarbonat umgebildet hatte[3]) (= Harnstoffzahl).

Harnstoffzahl berechnet für 25 ccm nach	24 Stunden	48 Stunden	68 Stunden
a) 0,4 g Wurzel mit 20 ccm Wasser, Filtrat mit 2 ccm Harnstoff	—	16,8	—
b) Stengelteile	11,2	24,4	32,6
c) Samenlappen	48,3	48	48,6
d) 0,340 g obere Teile mit 20 ccm Wasser, Filtrat mit 2 ccm Harnstoff	—	8	9,6

Es kommt also nicht nur in den Samen, sondern auch in allen anderen Teilen der jungen Keimpflanzen Urease vor[4]). Schon

[1]) Chem. Weekbl. 1917, S. 6.

[2]) Vgl. bez. Einzelheiten die 2. Broschüre Fürstenbergs und den Artikel von Prinsen Geerligs.

[3]) Vgl. u. a. Wester, Pharmaz. Centralhalle 1916 (wo irrtümlich Harnsäure statt Harnstoff steht) und Ber. d. dtsch. pharmazeut. Ges. 1920, S. 163—175.

[4]) Beyerinck hat übrigens schon im Jahre 1916 mit Hilfe seiner „mikrochemischen" Irisreaktion in einigen Pflanzenorganen Urease nachgewiesen, u. a. auch in den von mir makrochemisch und quantitativ untersuchten Fruchthülsen des Goldregens.

früher habe ich bewiesen, daß wir in der Harnstoffzahl ein gewisses Maß für die Ureasemenge besitzen. Der Ureasegehalt der obenbezeichneten Teile nimmt also in folgender Reihe ab: c > b > a > d.

Im Jahre 1920 wurden die Versuche mit größeren Materialmengen wiederholt. Zwar waren die Harnstoffzahlen nicht genau dieselben — wie auch nicht zu erwarten war — aber im großen ganzen wurden dieselben Resultate erzielt wie im Jahre 1918.

Auch die Hülsen von jungen Früchten des Goldregens wurden auf Urease untersucht, wie oben unter b) und c) angegeben.

Harnstoffzahl nach	24 Stunden	48 Stunden	68 Stunden
	9,6	14,4	24

Auch hier findet sich also ziemlich viel Urease vor. Schon früher habe ich Urease in den Samen dieser Pflanze nachgewiesen[1]).

Schließlich wurden am 17. VII. frische Blätter und Stengel von am 7. IV. ausgesäten Canavaliabohnen (Cultuurtuin voor technische gewassen, Delft, Holland) quantitativ auf Urease untersucht.

Es wurde jedesmal eine Menge des Reaktionsgemisches titriert, welche 3,55 g des frischen Blattes, resp. 0,82 der frischen Stengel entsprach. Die Bestimmungen wurden ausgeführt bei 35°.

Harnstoffzahl berechnet für 10 g frisches Material nach	2 Stunden	4 Stunden	10 Stunden
Blatt	39,8	49,9	124,8
Stengel	7,2	8,6	

Die Blätter enthalten folglich eine sehr bedeutende Menge Urease.

Es bleibt zu untersuchen, welche biochemische Rolle dieses Enzym spielt.

---

[1]) D. H. Wester, Pharmaz. Centralhalle 1920, S. 377—385.

Nachweis eines stofflichen Defizites im Gewebe an Avitaminose erkrankter Tiere.

Von

W. R. Heß und N. Takahashi.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Zürich.)

(Eingegangen am 24. Juni 1921.)

Die Untersuchungen, über welche nachstehend berichtet wird, wurden ausgeführt, um Orientierung darüber zu erhalten, ob Aussichten bestehen, im Gewebe an Avitaminose erkrankter Tiere ein substanzielles Defizit nachzuweisen, welches als die oder eine der Ursachen der Avitaminosesymptome anzusehen ist.

Bereits sind Beobachtungen bekannt, welche eine stoffliche Unterwertigkeit im Gewebe beriberikranker Tauben erweisen. Ciaccio[1]) fand die Lipoid-Phosphorsäure im Muskelgewebe solcher gegenüber Gesundtieren reduziert. Der Gegensatz zeigt sich auch beim Vergleich mit Hungertieren. Dieser — bei Bestätigung — zweifellos wichtige Befund läßt die Frage offen, ob es sich hierbei um Ursache oder Wirkung handelt. Eine Differenzierung in dieser Hinsicht ist nur dadurch möglich, daß zur stofflichen Bewertung des zu untersuchenden Gewebes ein biologischer Indicator herangezogen wird, d. h. Testtiere, welche im Ernährungsversuch die Analyse nach Vorhandensein oder Fehlen von Stoffen mit Vitaminfunktionen vollziehen. Man könnte daran denken, für diese Zwecke auf Hefekulturen zurückzugreifen. Nach den Untersuchungen von R. J. Williams[2]) und einigen anderen englischen Autoren bewähren sich diese als Indicator für den Nachweis von Vitaminen. Wenigstens sah Williams

---

[1]) Ciaccio, C., Contributo allo studio delle alimentazioni incomplete. Ann. di clin. med. 10, 60. 1920.

[2]) Roger J. Williams, Vitamines and Yeast Groth. Journ. of biol. chem. 46, 113. 1921.

bei der Durchprüfung einer Reihe pflanzlicher Nahrungsmittel, abgesehen von einzelnen Divergenzen, einen deutlichen Parallelismus im Einfluß von Extrakten dieser Stoffe einerseits auf das Wachstum vitaminfrei ernährter Ratten, andererseits auf das Wachstum der Hefe. Dennoch scheinen uns Resultate von höherem Wert zu sein, wenn sie von einem Testobjekt stammen, welches, abgesehen vom Wachstum, noch mit anderen Merkmalen auf Ausfall von Vitaminen reagiert. So verfolgten wir den Plan, einseitig ernährten Mäusen und Ratten Zulagen in Form von Gewebebestandteilen zu verabreichen, sowohl von an Avitaminose erkrankten Tieren als auch von gesunden Individuen derselben Art. Das Resultat suchten wir in einem eventuellen Unterschied in der Wertigkeit der Zulagen, die sich darin kundgibt, daß die vom Avitaminosetier stammenden Gewebepräparate die Testtiere in geringerem Maße vor Folgen der einseitigen Ernährung schützen als die von gesunden Tieren auf gleiche Weise gewonnenen Präparate.

Für die konkrete Versuchsanordnung waren folgende Überlegungen maßgebend: Als Grunddiät wurde ausschließlich gekochter Reis gewählt; denn eine voraussetzungslos arbeitende Methode mußte auch die Möglichkeit vorsehen, daß eine allfällige Differenz in der Qualität des Zelleiweißes besteht. Ein Eiweißgehalt der Grunddiät könnte in diesem Falle die qualitative Insuffizienz der Zelleiweiße durch deren Ergänzung verdecken. Auf eine Fettration in der Grunddiät konnten wir aus dem Grunde verzichten, weil nach den Untersuchungen von J. C. Drummond[1]) Ratten Fettfreiheit der Nahrung für lange Zeit — d. h. nahezu 6 Monate — bei guter Entwicklung ertragen. Eine Erklärung scheint hierfür durch die Konstatierungen von T. C. Taylor und J. M. Nelson[2]) gegeben, indem aus Stärke verschiedener Herkunft bei der Hydrolyse auch dann noch Fett extrahierbar wird, wenn der Hydrolyse eine erschöpfende Fettextraktion vorausgeschickt worden ist.

Auch in bezug auf einen eventuellen qualitativen oder quantitativen Mangel einer anorganischen Komponente wollten wir

---

[1]) I. C. Drummond, Nutrition on diets practically devoid of fat. Proc. of the physiol. soc. 1920; Journ. of physiol. 54.

[2]) Taylor, T. C., and J. M. Nelson, Fat associatet with stark. Journ. of the Americ. chem. soc. 42, 1726. 1920.

keine Voraussetzungen machen, so daß, abgesehen von der Salzzufuhr im Trinkwasser, im zugeführten Reis und in den Zulagen keine Salze verabreicht wurden.

Selbstverständlich ist bei einer solchen Versuchsanordnung volles Gedeihen der Testtiere ausgeschlossen. Ungeachtet dessen aber bieten Gewichtsveränderungen, Lebensdauer, Zeitpunkt spezieller Symptome Anhaltspunkte genug, eine Differenz in bezug auf die Ernährungswertigkeit verschiedener Zulagen wahrzunehmen. Für eine volle Deckungsmöglichkeit des energetischen Bedarfes und Ersatz des Wasserabganges war selbstverständlich Sorge getragen.

Bei der Beschaffung des als Zulage verabreichten Gewebemateriales griffen wir auf Tauben. Es geschah dies, weil hier die Symptome der Avitaminose charakteristisch sind. Davon hängt die Zuverlässigkeit der Beobachtung wesentlich ab, daß man es bei der Gewinnung des zu kontrollierenden Gewebes wirklich mit Avitaminose zu tun hat. Es ist nicht überflüssig, dies zu betonen: Muß man doch immer damit rechnen, daß Inanition oder durch diese sekundär bedingte Erscheinungen Anlaß zu Irrtum geben. Wir verarbeiteten nur solche Tiere, die typische, sich motorisch äußernde Reiz- oder Lähmungssymptome aufwiesen. Tauben mit allgemeiner Schwäche wurden ausgeschaltet, ebenso die spontan zugrunde gegangenen. Bei den 14 verarbeiteten Tauben fiel das Auftreten der Reizsymptome zwischen den 17. und 33. Tag, die Lähmungssymptome zwischen den 12. und 32. Tag. Betreffend die Art des Gewebes, dessen Ernährungswertigkeit wir kontrollieren wollten, wählten wir Muskel und Pankreas, letzteres im Gedanken an die Möglichkeit, daß die Vitamine vielleicht mit den Fermenten in stofflicher Beziehung stehen. In einem Organ, welches, wie die Bauchspeicheldrüse, große Fermentmengen produziert, könnte man bei einem solchen Zusammenhang größere Reserven an Vitaminen vermuten. Bei der Verfütterung würde dieses Gewebe aus diesem Grunde eine besondere Rolle spielen.

Die Art der Darreichung der Gewebe wurde hauptsächlich durch praktische Momente gegeben. Wir wählten die Form von Trockensubstanz, da es nicht ohne sehr großen Tieraufwand möglich ist, auf bestimmte Fütterungstermine Schlachttiere mit ausgesprochenen Symptomen der Avitaminose bereit

zu haben. Die Verabreichung von Trockensubstanz gestattet nicht nur die exakte Einhaltung der Termine für die Verabreichung der Zulagen, sondern auch eine vollständige Ausnützung des Materiales. Bei der Präparation wurden die frisch geschlachteten Tiere zerlegt, das Pankreas möglichst sauber herauspräpariert, die Muskelsubstanz von makroskopisch erkennbarem Fett befreit. Die in feine scheibenförmige Schnitzel geschnittenen Gewebsstücke wurden auf elektrisch erwärmter Unterlage unter Vermeidung einer 40° übersteigenden Temperatur lufttrocken gemacht. Die Aufbewahrung geschah in einer mit Korkstöpsel verschlossenen Flasche. In gleicher Weise war für Vergleichsversuche Trockenhefe zubereitet worden. Wir waren uns wohl bewußt, durch die Wahl der Trockenverfütterung die Aussichten auf ein positives Ausfallen der Versuche etwas herabzumindern, weil die Trocknung eine im frischen Zustand eventuell vorhandene Differenz zwischen Gewebe von gesunden und kranken Tieren auslöschen kann. Wir mußten uns aber trotz dieser Einsicht nach den oben gegebenen praktischen Argumenten richten.

Als sehr wichtig erachteten wir die Dosierung der aus den getrockneten Geweben gebildeten Nahrungszulagen. Damit eindeutige Ernährungseffekte im Gedeihen der Tiere zum Ausdruck kommen können, muß die Zulage in einer ein bestimmtes Minimum nicht unterschreitenden Quantität zugemessen werden. Dabei besteht aber auch die Gefahr, daß die für eine Differenzierung günstige Dosierung überschritten wird. Wenn im Gewebe der Avitaminosetiere das substantielle Defizit nur ein relatives ist, so könnte sich das Testtier doch ausreichend eindecken, wenn die Zulage groß genug bemessen wird. Mit Rücksicht hierauf hielten wir es für geraten, mit sehr kleinen Zulagedosen zu arbeiten. Wir hatten damit auch von vornherein die Gewißheit, daß die Lebensdauer aller Testtiere auf eine nicht allzulange Spanne Zeit begrenzt war und diese somit für jedes Ernährungsregim als ein zahlenmäßig faßbarer Indicator ausgenützt werden konnte. Die verabreichten Dosen finden sich in Tabelle I und II notiert, und zwar pro Tier und Tag berechnet. Tatsächlich wurde die Zulage nur jeden 5. Tag in der 5fachen Tagesdosis verabreicht. An diesen Zulagetagen war jeweils die Reismenge soweit reduziert, daß sie restlos verzehrt wurde und mit ihr auch das beigemischte Präparat.

Tabelle I (Mäuse).

	1	2	3	4	5	6	7
Art der Zulage	Nihil	Muskelpräparat von gesunden Tieren	Muskelpräparat v. Avitaminose-Tieren	Pankreaspräp. von gesunden Tieren	Pankreaspräp. v. Avitaminose-Tieren	Trockenhefe	Alkohol. Hefeextrakt
Gewicht der Zulage (pro Tag und Tier) in g	0	0,06	0,06	0,02	0,02	0,02	0,005
Zahl der Tiere	10	6	6	6	6	6	6
Durchschnittsgewicht zu Beginn in g	14,9	14,7	15,6	16,2	14,9	15,7	16,0
Durchschnittsgewicht nach							
1 Woche	13,8 (10 T)	14,1 (6 T)	14,3 (6 T)	15,2 (6 T)	13,9 (6 T)	14,7 (6 T)	15,2 (6 T)
2 Wochen	12,6 (9 T)	13,4 (6 „)	13,0 (6 „)	14,2 (6 „)	12,7 (6 „)	13,3 (6 „)	14,2 (6 „)
3 „	11,8 (6 „) **)	13,7 (6 „)	12,5 (4 „)	13,7 (4 „)	12,6 (3 „)	12,7 (3 „)	14,5 (6 „)
4 „	13,1 (1 „)	14,0 (6 „)	14,1 (2 „)	14,1 (3 „)	14,2 (2 „)	12,6 (1 „) **)	15,4 (5 „)
5 „	—	14,4 (6 „)	14,1 (2 „)	13,4 (3 „)	14,0 (2 „) **)	12,9 (1 „)	15,9 (4 „)
6 „	—	14,5 (6 „)	14,0 (2 „) **)	12,0 (2 „) **)	13,8 (1 „)	—	15,7 (4 „)
7 „	—	13,9 (6 „)	13,6 (2 „)	13,2 (1 „)	13,5 (1 „)	—	16,0 (4 „)
8 „	—	13,7 (5 „)	13,4 (2 „)	13,1 (1 „)	—	—	16,0 (4 „) **)
9 „	—	15,2 (3 „)	14,5 (1 „)	14,2 (1 „)	—	—	16,3 (2 „)
10 „	—	15,4 (2 „) **)	13,2 (1 „)	14,8 (1 „)	—	—	16,6 (2 „)
11 „	—	17,2 (1 „)	—	—	—	—	16,8 (1 „)
12 „	—	16,0 (1 „)	—	—	—	—	—
13 „	—	15,9 (1 „)	—	—	—	—	—
Durchschnittslebensdauer (Tage)	22,9	> 68,3 *)	39,8	> 37,5 *)	33	25,7	> 49 *)
Lebensdauerextreme (Tage)	16 u. 33	57 u. 94	21 u. 75	18 u. 80	17 u. 65	17 u. 26	30 u. 84

***) und **) Vergleiche Notiz zu Tabelle II.**

Tabelle II (Ratten).

	1	2	3	4	5	6	7
Art der Zulage	Nihil	Muskelpräparat von gesunden Tieren	Muskelpräparat v. Avitaminose-Tieren	Pankreaspräp. von gesunden Tieren	Pankreaspräp. v. Avitaminose-Tieren	Trockenhefe	Alkohol. Hefeextrakt
Gewicht der Zulage (pro Tag und Tier) in g	0	0,06	0,06	0,02	0,02	0,02	0,005
Zahl der Tiere	6	2	2	2	2	2	2
Durchschnittsgewicht zu Beginn in g	48,1	51,0	59,0	58,0	64,6	58,6	54,4
Durchschnittsgewicht nach							
1 Woche	48,9 (6 T)	51,4 (2 T)	59,3 (2 T)	57,9 (2 T)	65,3 (2 T)	58,9 (2 T)	55,0 (2 T)
2 Wochen	47,6 (6 „)	52,2 (2 „)	60,4 (2 „)	58,1 (2 „)	65,2	59,4 (2 „)	55,5 (2 „)
3 „	48,4 (6 „)	53,2 (2 „)	61,2 (2 „)	58,0 (2 „)	65,4	59,5 (2 „)	56,2 (2 „)
4 „	47,8 (6 „)	54,2 (2 „)	60,1 (2 „)	58,9 (2 „)	65,9	65,3 (2 „)	57,6 (2 „)
5 „	46,9 (6 „)	55,9 (2 „)	57,8 (2 „)	59,2 (2 „)	64,7	61,6 (2 „)	58,4 (2 „)
6 „	55,4 (3 „)	56,8 (2 „)	55,2 (2 „)	59,7 (2 „)	64,5	62,5 (2 „)	59,1 (2 „)
7 „	44,6 (2 „) **)	53,5 (2 „)	50,9 (1 „)	53,9 (2 „)	61,8	56,6 (2 „)	56,2 (2 „)
8 „	—	51,0 (2 „)	41,6 (1 „) **)	47,7 (2 „)	57,1	50,2 (2 „)	54,2 (2 „)
9 „	—	50,0 (1 „) **)	—	45,3 (2 „)	57,8 (1 T) **)	50,0 (1 „)	52,1 (1 „) **)
10 „	—	—	—	—	—	42,0 (1 „) **)	—
Durchschnittslebensdauer (Tage).	> 51,2*)	65,5	54,0	67,5	63,0	68	65,5
Lebensdauerextreme (Tage) . .	44 u. 62	61 u. 70	50 u. 58	66 u. 69	58 u. 68	63 u. 73	62 u. 69

*) Das Zeichen > bedeutet, daß in die Berechnung die durch Abtöten gekürzte Lebensdauer eines Tieres mit einbezogen ist; bei spontanem Absterben desselben wäre dementsprechend ein höherer Wert erreicht worden.

**) Bei den hinten mit einer Nasenklammer versehenen Durchschnittsgewichten ist zu beachten, daß sie sich nicht auf die volle Zahl der Versuchstiere beziehen wegen Abgang durch Tod einzelner Individuen. Dadurch, daß diese aus der Berechnung ausfallen, kommt eine Verschiebung des Mittelwertes zustande, welche die Interpretation kompliziert.

Die Wahl der Testtiere richtete sich u. a. nach möglichst kleinem Verbrauch an Zulagematerial. Danach waren Mäuse das Gegebene, ergänzt durch Rattenserien mit kleinerer Individuenzahl. Die Unsicherheit in der Dosierung ließ uns für beide Tierarten die Zulageration in der gleichen Höhe fixieren, war sie für die Mäuse zu hoch, fiel sie vielleicht für die Ratten richtig aus. Für Mäuse und Ratten als Testtiere sprach ferner der Umstand, daß sie Fleischpräparate willig aufnehmen und gut verdauen.

In bezug auf die für die Einschätzung der Versuchsresultate nicht irrelevanten Nebenumstände ist folgendes zu bemerken: Der Aufenthaltsraum war auf 8—15° temperiert. Die Tiere waren in Gläsern untergebracht, die Ratten zu zweien, die Mäuse zu dreien. Die Fütterung erfolgte jeden Tag morgens. Wasser stand den Tieren immer ausreichend zur Verfügung, ebenso Reis. Mit der Fütterung war eine Reinigung des Glases verbunden; die den Boden bedeckende Cellulosewatte wurde jeweils durch frische ersetzt. Jede Woche wurden die Tiere einzeln vor dem Füttern gewogen.

Die Resultate der Versuche finden sich in Tabelle I und II zusammengestellt. In bezug auf Gewicht und Lebensdauer sind die Durchschnittszahlen, für letztere noch die Extremwerte notiert.

Durch die in Tabelle I (Mäuse) aufgeführten Daten sehen wir folgende Feststellungen belegt:

1. In der Verlängerung der Lebensdauer, welche durch die verschiedenen Zulagen erreicht wird, zeigen sich je nach der Art der Zulage wesentliche Unterschiede. Den Höchstwert erreicht die Verlängerung mit 67 Tagen durch Muskelsubstanz gesunder Tiere. Zu berücksichtigen ist dabei allerdings, daß der alkoholische Hefeextrakt, der mit 49 Tagen am zweithöchsten kommt, nur in kleinerer Dosis verabreicht wurde, dies mit Rücksicht auf Wegfall von Ballastsubstanzen. Das Minimum von Zulageeffekt finden wir bei Trockenhefe mit 26 Tagen gegenüber 23 Tagen bei reiner Reisnahrung. — Von speziellem Interesse ist, gemäß unserem Versuchsplan, die Gegenüberstellung der gleichartigen Gewebe einerseits von gesunden, andererseits von den an Avitaminose erkrankten Tieren. Mäuse, welche Muskel von Beriberi-Tauben als Zulage erhielten, erlangen eine Lebensdauer von 39,8 Tagen gegenüber 67,6 Tagen bei Verfütterung von Muskel gesunder

Tiere. Die Differenz ist zu groß, als daß sie als Zufall erklärt werden dürfte. Wir erkennen somit, daß in dem Muskelgewebe der an Avitaminose erkrankten Tiere tatsächlich ein stoffliches Defizit besteht. Es kommt dadurch zum Ausdruck, daß es sich im Schutz gegen die Folgen einseitiger Ernährung minderwertig erweist. Die Feststellung mit Muskelgewebe wird gestützt durch diejenige mit Pankreas, wobei aber der Effekt bescheidener ist.

Dabei muß berücksichtigt werden, daß hier die Zulagedosis nur ein Drittel derjenigen an Muskelsubstanz beträgt. Die Erwartung der höheren Vitaminwertigkeit dieser Gewebeart, dann hauptsächlich auch die kleinen Mengen Gewebematerial, die vom einzelnen Schlachttier gewonnen werden konnten, hatten uns veranlaßt, die Pankreasration niedriger zu halten.

Fast noch deutlicher als die Mittelwerte sprechen die Höchstwerte der Lebensdauer, welche bei reinem Reis 33 Tage beträgt.

Bei Muskelsubstanz als Zulage stehen sich die Zahlen 94 Tage für Gesund- und 75 Tage für Krankpräparat, bei Pankreasgewebe 80 für Gesund- und 65 für Krankpräparat gegenüber.

Die Resultate der Wägungen unterstreichen die aus der Lebensdauer gezogenen Schlüsse insofern, als wir bei Muskel-Gesundpräparat eine nicht unbedeutende Gewichtszunahme erkennen gegenüber einem Schwanken der Werte um annähernd konstante Mittellage bei Muskel von Beriberi-Tieren. Bei Pankreas als Zulage fehlt dieser typische Unterschied. Ein Vergleichsmaß zur Bewertung der Gewichtskurve ist in der Serie mit alkoholischem Hefeextrakt als Zulage gegeben. Eine Beeinträchtigung der Deutung erfährt die Kontrolle der Gewichtsveränderung dadurch, daß im Verlaufe der Zeit einzelne Versuchstiere durch Tod abgehen, weshalb den folgenden Berechnungen des Mittelwertes eine andere Tierzahl zugrunde liegt. Dabei kann es zu Verschiebungen des Mittelwertes kommen, welche die Stetigkeit der Kurve stören. Aus diesem Grunde sind die sich auf eine reduzierte Tierzahl beziehenden Mittelwerte in Klammer gesetzt und die Tierzahl angeführt.

Die Interpretation der Werte, die in Tabelle II (Ratten) niedergelegt sind, ergänzen die mit Mäusen gemachten Erfahrungen. Hier treffen wir im allgemeinen eine bedeutend höhere Lebensdauer. Die Ratten sind gegenüber reiner Reisnahrung

bekanntlich sehr resistent. Die Wertigkeit der Zulagen bemessen nach der Lebensverlängerung zeichnet sich dabei weniger prägnant ab. Die Differenz zwischen Gesund- und Avitaminosepräparat ist aber auch hier unverkennbar besonders prägnant für Muskel.

Die Höchstwerte der Lebensdauer entsprechen der an den Mäusen konstatierten Regel.

Die Gewichtskurven der Ratten bieten der Interpretation geringere Schwierigkeiten als die der Mäuse, weil in den ersten 6 Wochen in keiner Serie Tiere durch den Tod ausschieden. Bei allen Zulageserien sehen wir das Körpergewicht sich verändern, wie es für vitaminfreie aber die Hauptnahrungsstoffe führende Basaldiät bekannt ist. Es ist dies ein anfängliches Emporsteigen des Körpergewichtes, welchem später eine Senkung folgt, wobei man den Umschlag mit dem Verbrauch des Eigenvorrates an Vitaminen in Zusammenhang bringt.

Zu erwähnen sind schließlich noch die Beobachtungen, welche an Ratten betreffend Auftreten von Xerophthalmie gemacht worden sind. Dieses Symptom der Avitaminose trat unter den 6 auf reiner Reisnahrung stehenden Tieren bei 3 Individuen mit dem 34. Versuchstag auf, bei einem vierten war ausgesprochene Mattheit der Cornea als Zeichen der beginnenden Erkrankung am 45. Tage zu beobachten. 2 Tiere waren an ihrem Todestag, am 53. bzw. 62. Tage, noch ohne Augensymptome. Bei den Ratten, welche die verschiedenartigen Zulagen erhielten, stellte sich die Augenerkrankung wie folgt ein:

Muskelpräp. v. gesunder Taube . .	keine Xerosis,
„ v. Beriberi-Taube . .	Xerosis am 42. bzw. 50. Tage beginnend,
Pankreaspräp. v. gesunder Taube .	Xerosis in einem Fall ausbleibend, im anderen am 42. Tage beginnend,
„ v. Beriberi-Taube .	Xerosis bei beiden Tieren am 42. Tag,
Trockenhefe	Xerosis am 36. bzw. 45. Tage beginnend,
Alkohol. Hefeextrakt	Xerosis bei beiden Testtieren am 36. Tage beginnend.

Das Bemerkenswerte dieser Angaben beschränkt sich auf die Festlegungen der Präventivwirkung des Muskel-Gesundpräparates, das wir beim Muskelpräparat von Avitaminosetieren nicht oder nicht entsprechend finden.

Es ist zu beachten, daß in diesem Punkt ebensowenig wie in bezug auf Lebensdauer und Gewichtsveränderung die Pankreaspräparate eine besondere Rolle spielen. Die entsprechenden Serien verhalten sich wie die Muskelzulageserie, wobei die durch die Zulage bedingten Ausschläge ungefähr der niedrigeren Dosierung dieses Präparates entsprechen.

Leider bringen die Mäuseversuche in bezug auf Xerophthalmie keine Ergänzungen, da bei diesen das Xerosissymptom fehlt. Ein anderes Symptom, das mit dem Zustand der Avitaminose in Zusammenhang gebracht werden muß, kam zu isoliert zur Beobachtung, als daß es zu einer Deutung verwertet werden könnte; es ist dies blutiger Harn, bei den 36 Mäusen der referierten Serien 3 mal beobachtet, nämlich bei 2 Individuen mit Muskeln von Beriberi-Tauben und bei 1 Individuum mit Pankreas von Avitaminosetierpräparat. In jedem Falle handelt es sich um die Tiere mit der längsten Lebensdauer der entsprechenden Serie von je 6 Tieren.

Die referierten Versuchsergebnisse führen zur Frage nach der Ursache der Differenz in der Ernährungswertigkeit der von gesunden einerseits, von Beriberi-Tauben andererseits stammenden Gewebepräparate. Das nächstliegende ist, im Vitamingehalt die entsprechende Differenz zu suchen. In diesem Sinne möchten wir denn auch unsere Resultate interpretieren. Wir betonen aber dabei, daß zur Sicherung dieser Deutung Kontrollen an größeren Serien mit verschiedenartigen Basaldiäten wünschenswert sind. Die Vorsicht gebietet ferner, dem positiven Ausfall unserer Versuche die Resultate gegenüberzustellen, die sich bei Verwendung von Präparaten ergeben, die von Tieren mit Hungerinanition stammen.

Auf zwei Schlußfolgerungen dürfen wir aber jetzt schon hinweisen: Die ausgesprochene Gegensätzlichkeit zwischen Muskel-Gesund- und -Avitaminosepräparat zeigt an, daß die Ursache der Avitaminosesymptome u. a. auch im Muskelgewebe zu suchen ist. Ferner sprechen die Resultate gegen die Möglichkeit, daß die Beriberisymptome durch im abnormen Stoffwechsel entstehende toxische Produkte hervorgerufen werden. Denn von einer Schädigung der mit Avitaminosepräparaten gefütterten Testtiere ist im Vergleich mit den Testtieren ohne Zulage in keiner Serie etwas zu beobachten.

Zusammenfassung.

Auf einseitige Nahrung gesetzte Mäuse und Ratten erhalten Nahrungszulagen in Form von Gewebepräparaten, die einerseits von Tauben mit experimenteller Beriberi, andererseits von gesunden Tauben stammen. In der Beobachtung der Lebensdauer, der Gewichtskurven und bei Ratten des zeitlichen Auftretens der Xerophthalmie dienen sie als Testtiere zum biologischen Nachweis eines stofflichen Defizites im Gewebe der Tiere mit Beriberi.

Die Versuche erweisen das Bestehen eines solchen Defizites. Die von den Avitaminosetieren stammenden Präparate (Muskel; Pankreas) vermögen die Testtiere nicht in dem Maße vor der Konsequenz der einseitigen Nahrung zu schützen, wie die in gleichen Dosen verabreichten Zulagen, die von gesunden Tieren geliefert sind. Es ist wahrscheinlich, daß dieser Unterschied der Wirkung auf den Vitamingehalt zu beziehen ist. Die Ursache der Avitaminosesymptome ist somit u. a. im Chemismus des Muskelgewebes zu suchen. Die Resultate sprechen dagegen, daß es sich dabei um das Entstehen toxischer Produkte handelt.

Über die Bildung von Acetaldehyd und die Verwirklichung der zweiten Vergärungsform bei verschiedenen Pilzen.

Von

Carl Neuberg und Clara Cohen.

(Aus der Chemischen Abteilung des Kaiser Wilhelm-Instituts für experimentelle Therapie in Berlin-Dahlem.)

Durchblickt man die verschiedenen Lehrbücher der Gärungschemie, die im vergangenen Jahrhundert und im ersten Dezennium des gegenwärtigen erschienen sind, so findet man unter den eigentlichen Produkten der alkoholischen Zuckerspaltung und verwandter Umsetzungen den Acetaldehyd nicht aufgezählt.

In den seinerzeit besonders verbreiteten Werken von P. Schützenberger[1]) und Adolf Mayer[2]) geschieht des Aldehyds auch unter den sog. Beiprodukten der Gärung keinerlei Erwähnung. In den „Diastasen" von J. Effront[3]) sowie in der „Zymasegärung" von E. und H. Buchner und M. Hahn[4]) wird der Acetaldehyd dem Stande des damaligen Wissens entsprechend nicht angeführt, ebensowenig in A. Baus[5]) Abhandlung über die Bierbrauerei. W. Kruse[6]) streift in der „allgemeinen Mikrobiologie" die Möglichkeit einer Entstehung höherer Aldehyde aus Eiweiß im Zusammenhange mit der Frage der Bouquetbildung, nicht aber den Übergang von Zucker in den einfachen Acetaldehyd.

Die einschlägigen Zusammenfassungen, die von Acetaldehyd überhaupt Notiz nahmen, stellten sich in unzweideutiger Weise auf den Standpunkt, daß es sich bei diesem Körper um ein sekundäres Erzeugnis handele, das durch eine nachfolgende Oxydation des im normalen

---

[1]) P. Schützenberger, Die Gärungserscheinungen. Deutsche Ausgabe, Leipzig 1876.

[2]) Ad. Mayer, Die Gärungschemie. Heidelberg 1895.

[3]) Jean Effront, Die Diastasen. Deutsche Übersetzung von Bücheler. Leipzig 1900.

[4]) E. und H. Buchner und M. Hahn, Zymasegärung. München 1903.

[5]) A. Bau, Bierbrauerei. Leipzig 1911.

[6]) W. Kruse, Allgemeine Mikrobiologie. Leipzig 1910, S. 537.

Gärakt primär gebildeten Alkohols entsteht. So sind auch in der neuesten Auflage von Beilsteins Handbuch der organischen Chemie, die am 1. I. 1910 abgeschlossen ist, die letzten Ergebnisse der verschiedenen französischen Autoren mit den Worten zusammengefaßt: „Die kleinen Mengen Acetaldehyd, die bei der Alkoholgärung des Zuckers auftreten können, sind kein normales Gärungsprodukt, sondern entstehen durch nachträgliche Oxydation des Alkohols an der Luft in Gegenwart von Hefe"[1]). Eine ähnliche Anschauung kommt zum Ausdrucke in Karl Windischs[2]) „Abhandlungen über die chemischen Vorgänge beim Werden des Weins" mit den Worten:

„Der bis jetzt am meisten anerkannten Ansicht gemäß entsteht die Hauptmenge des Aldehydes im Wein durch Oxydation des Alkohols durch den Sauerstoff der Luft. Damit ist nicht ausgeschlossen, daß schon bei der Gärung der Moste Aldehyde entstehen, dann aber wahrscheinlich durch Reduktion von Fettsäuren und nicht durch Oxydation von Alkoholen."

Ersichtlich zieht dieser Autor vornehmlich eine sekundäre Entstehung des Acetaldehyds (sowie seiner Homologen) in Betracht. Dieselbe Auffassung scheint auch K. Kroemer in F. Lafars Handbuch der technischen Mykologie zu vertreten[3]). Die Winzigkeit der beobachteten Aldehydmengen führte den Verfasser zur Theorie ihrer sekundären oxydativen Bildung. Er sagt für den Wein: „Für gewöhnlich wird hierdurch (d. h. die Aldehydbildung) die Güte des Weins kaum beeinflußt werden, weil den Hefen der Sauerstoff, der zur Bildung dieser Verbindungen notwendig ist, in weitaus den meisten Fällen nicht zur Verfügung stehen dürfte." Ähnlich hatte sich A. Bau[4]) für die Gärung ganz allgemein geäußert: „Der Aldehyd hat mithin (sc., wenn die Luft reichlich Zutritt hat) seinen Ursprung in der Oxydation des Alkohols in statu nascendi. Nach Ilges bildet er sich nicht bei der Gärung, sondern erst in den Destillierapparaten durch Berührung der Spiritusdämpfe mit Luft."

Alle tatsächlichen Befunde von Acetaldehyd betrafen freilich nur äußerst geringe Spuren dieser Substanz. Für das Gärungsproblem mußten sie ohne alle Bedeutung bleiben. Der Stand der Frage wird klar in Maercker-Delbrücks bekanntem Handbuch der Spiritusfabrikation vom Jahre 1903 präzisiert, wo es heißt[5]): „Der Acetaldehyd entsteht durch die Oxydation von Äthylalkohol während der höchsten Temperatur der Gärung ... Die Essigsäure ist ebensowenig wie der Aldehyd ein normales Produkt der Gärung, sondern ein Zersetzungsprodukt von bereits gebildetem Alkohol."

---

[1]) Beilstein, 4. Aufl., Bd. I, S. 595. 1918.

[2]) K. Windisch, Die chemischen Vorgänge beim Werden des Weines. Stuttgart 1906, S. 45.

[3]) F. Lafar, Bd. V, S. 484. 1905—1914.

[4]) F. Lafar, Bd. IV, S. 386. 1905—1907.

[5]) Maercker-Delbrück, S. 79.

Eine gründliche Umgestaltung erfuhr die Sachlage, als im Jahre 1910 C. Neuberg und H. Wastenson[1]) zunächst in der Hefe ein besonderes Ferment auffanden, dessen Tätigkeit gerade auf die Erzeugung von Acetaldehyd gerichtet ist, nämlich die Carboxylase. Wie in einer längeren Reihe von Arbeiten seit dem Jahre 1911 dann gezeigt worden ist, zerlegt das genannte Enzym die Brenztraubensäure in Kohlendioxyd und Acetaldehyd. Da die Carboxylase in allen eigentlichen Gärungserregern angetroffen ist und auch bei höher organisierten Lebewesen, die eine der geistigen Gärung ähnliche Zuckerspaltung zuwege bringen, so hat sich auf Grund dieser Tatsachen die „Acetaldehyd-Brenztraubensäuretheorie der Gärung" befestigt. Sie besagt, daß sowohl Brenztraubensäure als Acetaldehyd ein Zwischenprodukt bei der alkoholischen Zuckerspaltung darstellen. Gewichtige Beweise für diese Theorie sind dann im Jahre 1916 und 1918 von C. Neuberg mit E. Färber und E. Reinfurth dadurch beigebracht worden, daß sie tatsächlich bedeutende Quantitäten Acetaldehyd, bis zu 75% der theoretisch möglichen Menge, durch modifizierte Gärführung des Traubenzuckers und anderer Hexosen zu isolieren imstande waren. Daß dabei die Brenztraubensäure als unmittelbare Vorstufe des Acetaldehyds zu gelten hat, zeigten des weiteren C. Neuberg und E. Reinfurth, indem unter den Bedingungen der verschiedenen Aldehyd-Abfangverfahren — Sulfit- und Dimedonmethode — die Brenztraubensäure gleichfalls Acetaldehyd liefert; und vor nicht allzulanger Zeit hat M. von Grab[2]) auch die Brenztraubensäure selbst abzufangen vermocht.

Für die eigentliche alkoholische Gärung steht die „Acetaldehyd-Brenztraubensäuretheorie" auf verläßlicher Grundlage. Nun gibt es auch noch andere Gärungsvorgänge, die der alkoholischen Zuckerspaltung mehr oder minder nahe verwandt sind, und es scheint im Hinblick auf die Möglichkeit, zu einer einheitlichen Auffassung vom Chemismus dieser Prozesse zu gelangen, als eine Aufgabe von nicht untergeordnetem Interesse,

---

[1]) Betreffs der Arbeiten Neubergs und seiner Mitarbeiter sei auf die zusammenfassende Darstellung Neubergs: „Über den Zusammenhang der Gärungserscheinungen in der Natur", Festschrift d. Kaiser Wilhelm-Ges. zur Förderung der Wissenschaften, Berlin 1921, S. 162, verwiesen.

[2]) M. v. Grab, 1921.

ebenfalls für die von diesen Erregern bewirkten und im Haushalte der Natur häufig noch wichtigeren Umsetzungen der Kohlenhydrate einen entsprechenden Verlauf zu erweisen.

Zunächst hatte C. Neuberg mit F. Nord, E. Färber und E. Wolff dargetan, daß der Abbau der Zuckerarten und ihm nahestehender Substanzen, wie Mannit und Glycerin, durch eine Reihe über die ganze Erde verbreiteter Bakterien grundsätzlich in gleicher Weise erfolgt. Bei den Erregern der Ruhr, beim Bacillus lactis aerogenes, beim Bacterium coli gelingt es, mittels geeigneter Versuchsanordnungen die sonst flüchtig durcheilte Stufe des Acetaldehyds in beträchtlichem Umfange zu fixieren. Dasselbe trifft für die ubiquitäre Klasse der Buttersäurebildner[1]) zu. Damit enthüllt sich bereits eine weitgehende Gleichmäßigkeit bei den verschiedenen natürlichen Umsetzungsformen des Zuckers[2]).

Wenn bei einem Gärungsvorgange Acetaldehyd in wirklich reichlichen Mengen zutage gefördert wird und sein Auftreten, wie nunmehr erwiesen ist, sich auf primärer Grundlage vollzieht, so ist es klar, daß diese offenbar ohne jede Mitwirkung atmosphärischen Sauerstoffs erreichte biologische Oxydationsphase in irgendeinem entsprechenden Reduktionsprozeß ihr Gegenstück haben muß.

Bei der einfachen alkoholischen Zuckerspaltung entziehen sich diese Zusammenhänge deshalb der unmittelbaren Wahrnehmung, weil bei dem glatten Zerfall des Zuckers gemäß der gewöhnlichen Gärungsgleichung der zwischendurch entstehende Acetaldehyd durch den „mobilisierten Gärungswasserstoff“ sofort zu Äthylalkohol hydriert wird.

Schlägt man jedoch künstlich den Acetaldehyd in Fesseln, bewahrt ihn also vor der normalen Reduktion zum Weingeist, so muß in einem anderen Reduktionserzeugnis der Ausgleich gegeben sein. Bei der zweiten Vergärungsform, bei der man durch Zugabe sekundärer schwefligsaurer Salze den Acetaldehyd aus der Bahn der üblichen Umwandlungen ausschaltet, besteht die korrelative Reduktion in der Erzeugung von äquimolekularen Mengen Glycerin.

Bei der dritten Vergärungsform, bei der das intermediäre Gebilde des Acetaldehyds nicht durch Fesselung, sondern durch

[1]) C. Neuberg und B. Arinstein, diese Zeitschr. 117, 269. 1921.

[2]) Näheres siehe darüber in der erwähnten Mitteilung von Neuberg „Über den Zusammenhang der Gärungserscheinungen in der Natur.“

Dismutation — durch Umlagerung zu Äthylalkohol und Essigsäure — entfernt wird, findet man gleichfalls im Glycerin das Reduktionsäquivalent.

Bei der Buttersäuregärung, die als eine vierte Vergärungsform betrachtet werden kann, wird der Acetaldehyd bzw. seine Vorstufe, die Brenztraubensäure, aldolisiert und das Reaktionsprodukt durch eine „Saccharinumlagerung" in Buttersäure übergeführt. Da diese keinen funktionstüchtigen Wasserstoffacceptor mehr darstellt, und aus Gründen, die wir bislang nicht kennen, Glycerin ebenfalls nicht gebildet, ja sogar ähnlich wie Zucker selbst von den Buttersäureerregern angegriffen wird, kommt es dabei zu der bekannten Wasserstoffgärung, d. h. zu einer Entbindung freien Wasserstoffgases.

In bezug auf die Aldehydstufe liegen ähnliche Verhältnisse bei der Umsetzung von Kohlenhydraten durch die Bakterien der Coli- und Dysentheriegruppe vor. Der Acetaldehyd wird hier — in der Norm — dismutiert wie bei der dritten Vergärungsform, kann jedoch in erheblichem Umfange mittels der Abfangmethode festgelegt werden. Dagegen erfolgt keine entsprechende Speicherung von Glycerin, wohl deshalb nicht, weil der betreffende Kohlenhydratanteil, ehe er hydriert werden kann (wahrscheinlich über eine Modifikation des Methylglyoxals), zu Milchsäure umgelagert wird. Hinzu kommt, daß Glycerin selbst gegenüber den Erregern nicht beständig ist. Da somit der „Gärungswasserstoff" sich nicht als Reduktionsmittel betätigen kann, weder am Acetaldehyd noch an einem Zuckerhalbmolekül, entweicht er in molekularem Zustande. Diese Art des Zuckerzerfalls stellt eine fünfte Vergärungsart dar.

Unter günstigen Umständen kann man bei allen diesen Umsetzungsformen auf Spuren von Acetaldehyd stoßen; diese sind als Überbleibsel aufzufassen, die daher rühren, daß der entsprechende reduktive Ausgleich sich nicht in der Bildung einfacher Produkte auswirkt, sondern daß die Reduktionsvorgänge bei irgendwelchen synthetischen Leistungen der Organismen oder der Zellsäfte beteiligt sind.

Neuerdings haben C. Neuberg und J. Hirsch[1]) einen Vorgang beschrieben, den man als eine sechste Vergärungsform

[1]) C. Neuberg und J. Hirsch, diese Zeitschr. 115, 282. 1921.

bezeichnen kann; er verknüpft die Zuckerspaltung in durchsichtiger Weise mit aufbauenden Prozessen. Neuberg und Hirsch haben nämlich gefunden, daß bei der sogenannten, übrigens auch auf rein fermentative Art durchführbaren phytochemischen Reduktion von Aldehyden zu den zugehörigen Alkoholen der Acetaldehyd sich ansammelt, zwar nicht in freiem Zustande, sondern in Form einer benzoinartigen Kondensationsverbindung mit einem Teile des zugesetzten fremden Aldehyds. Schon früher hatten C. Neuberg und Mitarbeiter dargetan, daß die phytochemische Reduktion wahrscheinlich auf Kosten des Zuckers vollzogen wird und auch kleine Mengen freien Acetaldehyds, offenbar Überreste, dabei zum Vorschein kommen können[1]).

Somit ist die primäre Entstehung von Acetaldehyd und die damit Hand in Hand gehende Bildung bestimmter Reduktions- bzw. Anlagerungsprodukte bei verschiedenen Typen der biologischen Zuckerspaltung erwiesen.

Zum weiteren Ausbau dieser Zusammenhänge ist nunmehr eine Reihe von Mikroorganismen untersucht worden, die teils hinsichtlich ihres Chemismus den Erregern der alkoholischen Gärung verwandt erscheinen, zum Teil andere Zerlegungen der Kohlenhydrate zuwege bringen.

Es handelt sich zunächst um die Mucoraceen. Es sind dieses Pilze, die morphologisch der Hefe ferner stehen, zwar wie diese Alkohol hervorbringen, aber langsamer und nicht im selben Umfange[2]). (Es liegt dies daran, daß sowohl die absolute Menge umgesetzten Zuckers geringer ist, als auch reichlich Säuren, neben Kohlensäure Oxalsäure, Bernsteinsäure und Milchsäure aus dem Zucker gebildet werden. Das Verhältnis $C_2H_5OH : CO_2$ wird z. B. wie 4 : 5 angegeben, während es bei der Hefengärung bekanntlich 1 : 1 ist.)

Herangezogen wurden:

Mucor javanicus, Mucor mucedo, Mucor plumbeus,

---

[1]) C. Neuberg und A. Lewite, diese Zeitschr 91, 257. 1918. — F. F. Nord, Ber. 52, 1210. 1919. — C. Neuberg und F. F. Nord, Ber. 52, 2242 u. 2251. 1919.

[2]) Vgl. O. Emmerling, Ber. 30, 454. 1897 und C. Wehmer in Lafars Handbuch IV, 455. 1907.

Mucor racemosus, Mucor rouxii, Mucor silvaticus, Mucor stolonifer sowie anschließend:

Endomyces fibuliger und Rhizopus tritici.

Ferner dienten zu dieser Prüfung Vertreter der Gruppen Monilia, Oidium und Torula, und zwar im einzelnen:

Monilia candida, Oidium lactis, Torula α, Torula colliculosa und Torula rubra.

Des weiteren wurden die Untersuchungen ausgedehnt auf:

Aspergillus cellulosae[1]), Aspergillus citricus, Aspergillus fumaricus, Aspergillus niger, Aspergillus niger mutante, Penicillium variabile und Merulius lacrimans sowie schließlich auf:

Pilsner Kahmhefe, Weinkahmhefe III, Kahmhefe vergärend sowie Kahmhefe nicht vergärend.

Mit dieser nicht unerheblichen Zahl von Mikroorganismen ist in allen Fällen die Bildung von Acetaldehyd festgestellt und, soweit sie einigermaßen beträchtlich war, auch der Menge nach verfolgt worden.

Quantitative Bestimmungen sind mit Mucor javanicus, Mucor mucedo, Mucor plumbeus, Mucor racemosus, Mucor rouxii, Mucor stolonifer, Monilia candida, Oidium lactis, Torula α, Torula colliculosa, Endomyces fibuliger sowie Aspergillus niger mutante durchgeführt.

Um den Acetaldehyd ans Tageslicht zu fördern, diente das „Abfangverfahren“ von Neuberg, Färber und Reinfurth, d. h. die Zugabe sekundären schwefligsauren Natriums bzw. Calciumsulfits.

In den Fällen, wo eine nennenswerte Aldehydausbeute erreicht worden war, haben wir geprüft, ob eine korrelative Glycerinbildung nach Art der zweiten Vergärungsform eintrat. Solche Gäransätze wurden mit Mucor javanicus, Mucor plumbeus und Mucor racemosus, Monilia candida und Torula colliculosa angestellt. Mit voller Schärfe ergab sich in diesen Fällen, daß die von den genannten Erregern erzeugten Zuckerumsetzungsprodukte, Acetaldehyd und Glycerin, in molekularer Proportion vor-

[1]) Nach einer Mitteilung, die uns United States Departement of Agriculture, Washington, gemacht hat, soll der Pilz identisch mit Aspergillus fumigatus sein.

handen sind, gemäß der Formulierung: $C_6H_{12}O_6 = CH_3 \cdot CHO + CO_2 + C_3H_8O_3$, während die erzeugte Spritmenge gleichzeitig abnimmt, d. h. daß die Verhältnisse genau wie bei der mit gleichen Mitteln abgeänderten Vergärung des Zuckers durch Kulturhefen liegen.

Man kann also auch bei diesen Pilzgärungen von einer typischen Acetaldehyd-Glycerinspaltung des Kohlenhydrats sprechen. Übrigens sei erwähnt, daß mehr oder minder deutliche Spuren Aldehyd auch ohne Zugabe eines Abfangmittels bei einzelnen Mucoraceen- und Torulagärungen gefunden sind. Für diese Spuren gilt das vorher S. 205 und 208 Gesagte; die Verhältnisse liegen ähnlich wie bei der Hefengärung und wie für das jüngst von J. Hirsch beschriebene Auftreten von Acetaldehyd beim Kohlenhydratumsatz in der atmenden Kaltblütermuskulatur[1]).

Bei den anderen Pilzen, die mehr einen oxydativen Stoffwechsel besitzen und nicht „anaerob" arbeiten, bestehen natürlich diese Zusammenhänge nicht. Entweder kommt es gar nicht zu einer Glycerinerzeugung, indem entsprechende Anteile des Zuckers für den Zellaufbau sowie für Dissimilationsvorgänge herangezogen, werden, oder es findet, wie bei Oidium lactis, zwar eine mäßige Glycerinbildung statt, aber nicht im Gegenwertsverhältnis zur Acetaldehydmenge; die Gründe dafür sind offenbar analoger Art. Die Sachlage ähnelt in mancher Beziehung auch den Zuständen, die bei den von Coli- und Buttersäurebacillen bewirkten Umsetzungen herrschen.

Erwähnenswert erscheint, daß die auf Holzsubstanz gedeihenden Pilze, zu denen der Aspergillus cellulosae und Merulius lacrimans gezählt wird, ebenfalls Acetaldehyd hervorzubringen befähigt sind.

Der Abbauweg über den Acetaldehyd wird nun nicht allein bei Zersetzung des Zuckers eingeschlagen, sondern auch bei der Spaltung von niedriger molekularen Verbindungen, z. B. bei der Verarbeitung des Alkohols selbst. Die Umstände sind denen bei der Essiggärung verwandt, wo C. Neuberg und F. F. Nord als Durchgangsstufe zwischen Weingeist und Essigsäure den Acetaldehyd ebenfalls mit Hilfe des Abfangverfahrens nachgewiesen hatten. Den Erregern der Essiggärung reihen sich

[1]) J. Hirsch, diese Zeitschr. 117, 113. 1921.

die verschiedenen Kahmhefen an, mit denen wir, wenn auch in kleinerem Umfange, aus Äthylalkohol Acetaldehyd gewonnen haben. Daß von diesen „Omnivoren“ der Acetaldehyd wieder verzehrt wird, selbst in Gegenwart des Bindemittels Sulfit, steht mit früheren Feststellungen[1]) über einen solchen Verbrauch der Aldehyd-Sulfitkomplexe seitens anderer Organismen im Einklange und ist gewissermaßen zu vergleichen der von Bokorny[2]) gemachten Angabe, daß formaldehydschwefligsaures Natrium von gewissen Algen auf Stärke verarbeitet werden kann. Soweit Zuckerarten zu den verschiedenartigen Versuchen gedient haben, darf als Vorstufe des Acetaldehyds wohl die Brenztraubensäure betrachtet werden, nachdem jüngst T. Nagayama[3]) über die Zerlegbarkeit der Brenztraubensäure, der Pyruvinate und ihrer Sulfitadditionsverbindungen durch diverse Pilze berichtet hat.

Ein hauptsächliches Ergebnis der vorliegenden Untersuchung ist, daß bei zahlreichen Organismen nun der Acetaldehyd als ein wesentliches Produkt des Stoffwechsels festgestellt worden ist. Von neuem enthüllt sich so die wichtige Rolle des Acetaldehyds im Haushalte der Lebewesen; damit wird diesem so umsetzungsfähigen Körper, der durch Reduktion, Oxydation und Condensationen mannigfache Wandlungen eingehen kann, ein biochemisch immer bedeutungsvollerer Platz angewiesen.

Experimentelle Belege.

Wie in den vorausgehenden einleitenden Bemerkungen angegeben ist, diente zur Fixierung reichlicher und beweisender Mengen Acetaldehyds das „Abfangverfahren“, das auf der Addition intermediär gebildeten Acetaldehyds an zugefügte sekundäre schwefligsaure Salze beruht. Neuberg hat mit Reinfurth und Nord vor mehreren Jahren dargetan, daß im allgemeinen hinsichtlich des Umfanges, in dem die Fixation des Aldehyds gelingt, das leichtlösliche Dinatriumsulfit vorzuziehen ist. Wo aber dieses Salz wegen seiner alkalischen Reaktion oder ausgesprochener Schädigungen, die es an den Zelloberflächen herbeiführt, von den

[1]) C. Neuberg und E. Reinfurth, diese Zeitschr. **89**, 384. 1918; Ber. **52**, 1682. 1919. — C. Neuberg und F. F. Nord, diese Zeitschr. **96**, 166. 1919. — C. Neuberg und B. Arinstein, diese Zeitschr. **117**, 273. 1921.

[2]) Th. Bokorny, Chem. Centralblatt **1903**. I. 1035.

[3]) T. Nagayama, diese Zeitschr. **116**, 303. 1921.

Organismen nicht vertragen wird, kann man sich des unlöslichen neutralen Calciumsulfits bedienen, das weit indifferenter, aber auch in verringertem Grade für die Abfangzwecke geeignet ist.

Die verwendeten Pilze verdanken wir, soweit sie nicht im hiesigen Institute vorrätig waren, der Freundlichkeit der Herren Professoren F. Ehrlich in Breslau, P. Lindner in Berlin und C. Wehmer in Hannover, denen wir auch an dieser Stelle für die bereitwillige Abgabe von Kulturen unseren verbindlichsten Dank aussprechen; ferner fühlen wir uns Fräulein Hedwig Köster für die Weiterzüchtung und Reinheitskontrollen sehr verpflichtet.

Die Versuchsanordnung schloß sich an die ehemals von Neuberg und Reinfurth ausgearbeitete an. Da jedoch im Gegensatze zur Hefe die hier in Betracht kommenden Pilze nicht ohne weiteres in Massen zur Verfügung standen, wurden sie fast ausnahmslos in den Gärgefäßen selbst und zwar zumeist direkt auf den sulfithaltigen Zuckerlösungen herangezüchtet.

Im einzelnen verfuhren wir folgendermaßen:

I. Versuche mit Mucor javanicus.

a) Verwendet wurde eine Lösung, die in 100 ccm 6 g Traubenzucker[1]), 1 g Monokaliumphosphat, 0,6 g Magnesiumsulfat und 0,6 g Pepton Witte enthielt. Dieses Gemisch wurde 3 Tage nacheinander jeweils eine halbe Stunde sterilisiert; hierzu kamen 100 ccm einer 6 proz. Lösung von sekundärem schwefligsauren Natrium, die durch zweimaliges Aufkochen unter Luftabschluß entkeimt war. Das in einem konischen Kolben befindliche Gemenge war außerdem mit 1 g gesondert bei 180° sterilisiertem Calciumcarbonat versetzt, mit einer Platinöse der frischen Kultur von Mucor javanicus beimpft und in einen Brutschrank von 28° gestellt. Der gegen das Milieu wenig empfindliche Erreger war nach 24 Stunden angewachsen, und bereits nach dieser Frist war mit der Nitroprussidnatriumprobe das Auftreten von Acetaldehyd nachweisbar. Gleichzeitig zeigte das Aufsteigen von Kohlendioxydblasen die einsetzende Vergärung an. Die Menge des produzierten Aldehyds nahm in den nächsten Tagen deutlich zu. Nach 18 Tagen wurde eine quantitative Bestimmung vorgenommen. Zu dieser dienten 185 ccm der Urlösung. Sie wurden nach der Destillations-Titrationsmethode[2]) verarbeitet, indem zunächst (zwecks Ausfällung unverbrauchten Sulfits) 50 ccm m-Bariumchloridlösung zugesetzt wurden; dadurch wurde ein Volumen von 235 ccm erreicht. Ein aliquoter Teil,

[1]) Auch in allen nachstehenden Versuchen ist reinste Glucose benutzt worden.

[2]) C. Neuberg und E. Reinfurth, 1918.

und zwar 167 ccm, wurde dann unter Zugabe von 10 g kohlensaurem Kalk im Wasserdampfstrom destilliert und der übergehende Aldehyd unter den üblichen Vorsichtsmaßregeln aufgefangen.

Als Resultat von Doppelanalysen, die hier und im folgenden stets ausgeführt worden sind, ermittelten wir 0,594 g Aldehyd, das sind 15,08% des angewandten Zuckers, der praktisch vollkommen verschwunden gewesen ist. Wie man sieht, bleibt die Aldehydausbeute kaum hinter derjenigen bei der Hefegärung zurück, bei der Neuberg und Reinfurth früher bis zu 18,13% vom Gewichte des angewandten Zuckers gelangt sind.

Der hohe Ertrag an Acetaldehyd war Veranlassung, den Destillationsrückstand auf die Anwesenheit von Glycerin zu prüfen. Nach Eindampfen im Faust-Heimschen Verdunstungskasten, gründlicher Extraktion mit Alkohol sowie Behandlung mit Alkoholäther wurde eine Flüssigkeit erhalten, in der reichliche Mengen Glycerin vorhanden und mit der einfachen Reaktion von Neuberg und Mandel[1]) leicht nachzuweisen waren.

b) Wir gaben 100 ccm 6 proz. Zuckerlösung mit den erforderlichen Nährsalzen in einen konischen Kolben, in dem 100 ccm Wasser nebst 8 g Calciumsulfit (mit einem Gehalt von 50% an wasserfreiem $CaSO_3$) sowie 1 g Calciumcarbonat durch zweimaliges Aufkochen unter Luftabschluß sterilisiert waren, und bewahrten das Gemisch in einem Brutschrank bei 28° auf. Schon nach 24 Stunden war der Pilz gut angewachsen, und die Entwicklung von gasförmiger Kohlensäure zeigte auch hier den Beginn des Zuckerzerfalls an. Acetaldehyd war gleichfalls deutlich zugegen. In den folgenden Tagen nahm der Aldehydgehalt zu. Am 21. Tage schritten wir zur quantitativen Bestimmung. Eine Ausfällung der Sulfitionen erübrigte sich in diesem Falle wegen Anwendung des schwerlöslichen, schwefligsauren Kalks; der Aldehyd kann direkt durch Wasserdampfdestillation in Gegenwart von kohlensaurem Kalk in Freiheit gesetzt und in gewohnter Weise jodometrisch bestimmt werden.

Gefunden wurden 0,109 g Aldehyd, entsprechend 2,23% des angewendeten Zuckers.

Die Vermutung, daß die geringe Ausbeute an Aldehyd auf unvollständigen Umsatz des Zuckers zurückzuführen sei, bestätigte sich nicht, da nur Spuren unzerlegten Kohlenhydrats nachweisbar waren. Es zeigte sich vielmehr wieder, daß in bezug auf die Ausbeute an Aldehyd das lösliche schwefligsaure Natrium dem unlöslichen schwefligsauren Kalk überlegen ist.

c) Das günstige Ergebnis des Ansatzes a) veranlaßte die Anstellung größerer Versuche. In einem 2 Liter-Stehkolben wurden zu 500 ccm der beim ersten Versuch beschriebenen, 6% Glucose enthaltenden Nährflüssigkeit 500 ccm der dort gleichfalls verwendeten 6 proz. Natriumsulfitlösung sowie 5 g Calciumcarbonat gegeben; mittels einer Platinöse geschah die Pilzaussaat. Das Gemisch verblieb nunmehr 27 Tage im Brutschrank (28°). Es wurden dann in je 250 ccm der Acetaldehyd und das Glycerin und in weiteren 475 ccm der entstandene Äthylalkohol quantitativ ermittelt.

[1]) C. Neuberg und J. A. Mandel, diese Zeitschr. 71, 214. 1915.

Aus den zur Aldehyddestillation dienenden 250 ccm wurde zunächst mit 65 ccm m-$BaCl_2$-Lösung überschüssiges freies Sulfit ausgefällt. Die 315 ccm Reaktionsgemisch wurden in der Kälte filtriert und vom Filtrat 250 ccm der Wasserdampfdestillation unter Zusatz von 10 g $CaCO_3$ unterworfen. Dieses Destillat enthielt 0,521 g Acetaldehyd, welche bei einem ursprünglichen Gehalte von 5,95 g Zucker in den 250 ccm Filtrat einer Ausbeute von 8,76 % Acetaldehyd, bezogen auf den angewendeten oder 12,19 % auf den verbrauchten[1]) Zucker, entsprechen.

Der Rückstand von der Aldehyddestillation wurde auf einen Gehalt an nichtumgesetzten Zucker untersucht. Die Flüssigkeitsmenge betrug 340 ccm; nach dem Filtrieren gelangten 310 ccm zur Analyse. Sie wurden mit Eisessig schwach angesäuert, unter vermindertem Druck auf ca. 50 ccm eingedampft und dann von vorhandenen Ba-Ionen mittels Natriumsulfat befreit; nach Filtration und quantitativem Auswaschen wurde ein Volumen von 100 ccm hergestellt. Diese wurden nunmehr nach der Methode von Pavy-Kumagawa-Suto titriert. Gefunden wurden darin 1,52 g Zucker, was für den gesamten Destillationsrückstand 1,67 g ausmacht, entsprechend 28,07 % des angewendeten Zuckers.

Zur Glycerinanalyse[2]) mußte das Gärgut zunächst vom Sulfit befreit werden; zu diesem Zweck wurden 250 ccm Urlösung mit 65 ccm m-$BaCl_2$-Lösung und 150 ccm 4proz. Barytwassers $^1/_2$ Stunde gekocht, sodann wurde zur Fällung des überschüssigen Baryts CO_2 bis zur neutralen Reaktion auf Lackmus eingeleitet und das Reaktionsgemisch, dessen Volumen sich auf 730 ccm belief, filtriert. Vom Filtrat wurden 647 ccm im Faust-Heimschen Verdunstungskasten eingetrocknet, in der üblichen Weise mit Alkohol und Äther behandelt und so gereinigt. Nach quantitativer Entfernung des Alkohols wurde darauf der glycerinhaltige Rückstand auf 25 ccm gebracht; mit dieser Lösung ist die Glycerinanalyse ausgeführt.

Es resultierten 1,162 g Glycerin, entsprechend 6,65 g Zucker, die in den verarbeiteten 647 ccm Filtrat enthalten waren; somit belief sich die Ausbeute auf 17,48 % des angewendeten oder 24,30 % des umgesetzten Zuckers.

Der Alkohol wurde in 475 ccm Urlösung bestimmt; hierfür wurde das Gärgut zuförderst durch anreichernde Destillation auf ein Volumen von 110 ccm gebracht und dann der mit übergegangene Acetaldehyd durch Behandlung mit m-Phenylendiamin entfernt[3]). Zur Anwendung gelangte 4 g m-Phenylendiaminchlorhydrat, entsprechend der etwa 3fachen Menge des oben ermittelten Acetaldehydgehaltes. Dann wurden 75 ccm und nunmehr über Knochenkohle genau 50,0 ccm abdestilliert. Das spezifische Gewicht dieser Flüssigkeit (im Pyknometer bestimmt) zeigte einen Alkoholgehalt von 2,39 g an, der bei den zugrunde liegenden 14,25 g Zucker einer Ausbeute von 16,77 % Alkohol entspricht.

---

[1]) S. später.

[2]) Vgl. Neuberg und Reinfurth, 1918.

[3]) C. Neuberg und J. Hirsch, 1919.

Erhalten wurden

an	Acetaldehyd	8,76 %
„	Glycerin	17,48 „
„	Alkohol	16,77 „

An unvergorenem Zucker, der im Rückstande der Aldehydbestimmung ermittelt werden kann[1]), waren 28,07 % zugegen.

Bezogen auf den tatsächlich umgesetzten Zucker gewannen wir mithin:

12,19 % Aldehyd,
24,30 „ Glycerin und
23,32 „ Weingeist.

Gleichzeitig mit diesem Versuche wurde eine Kontrollbestimmung (Versuch ohne Abfangmittel) ebenfalls in einem 2 Liter-Kolben vorgenommen, und zwar wurden 500 ccm der Nährlösung mit 500 ccm sterilem Wasser gemischt und mit dem Pilz beimpft. Dieser sulfitfreie Ansatz wurde ebenfalls 27 Tage im Brutschrank bei 28° digeriert. Dann wurde in 500 ccm der Alkohol ermittelt, und zwar zu 43,77%. Besonders beachtenswert erscheint diese große Ausbeute an Äthylalkohol, die der Mucor javanicus in Reinkultur lieferte. Die Menge blieb nur unwesentlich hinter dem Ertrag mit Hefe zurück. Deutlich sieht man, daß ganz entsprechend den Erfahrungen für die Hefegärung im Abfangversuch die Ausbeute an Sprit vermindert ist, indem dabei, wie erwähnt, nur 23,32% vom wirklich umgesetzten Zucker auftraten.

Das Verhältnis, in dem im Abfangversuch durch den Mucor javanicus Acetaldehyd und Glycerin hervorgebracht werden, ist das molekulare.

Berücksichtigt man die umgesetzte Zuckermenge, so findet man bei Anwendung der von Neuberg, Hirsch und Reinfurth (l. c.) aufgestellten Formeln 94,3% des verbrauchten Zuckers in Form bekannter Stoffe wieder.

d) Um die Bedingungen den Verhältnissen bei der Hefegärung auch hinsichtlich der Aussaatmengen anzunähern, haben wir einen größeren Ansatz mit einem reichlichen Quantum des Erregers angestellt. Hierzu diente die Pilzernte, die im Kontrollversuch c) herangewachsen war. Die gesamte Pilzdecke wurde unter Schutz vor Infektion in ein Gemisch eingetragen, dessen Zusammensetzung im übrigen vollkommen dem Ansatz c) gleich war. Bei dieser erheblichen Aussaat wurden in der Tat größere absolute Mengen Acetaldehyd, Glycerin und Alkohol gefunden, d. h. es trat eine fast vollkommene Ausnutzung des Zuckers ein. Nur Spuren davon blieben unvergoren. Gefunden wurden 13,65% Aldehyd, 27,12% Glycerin und 21,35% Alkohol.

In einem entsprechenden besonderen Kontrollversuche wurde 43,30% Weingeist ermittelt, d. h. rund doppelt soviel wie im zugehörigen Abfangversuch.

[1]) C. Neuberg, J. Hirsch und E. Reinfurth diese Zeitschr. 105, 317. 1920.

II. Ansätze mit Mucor mucedo.

a) Die experimentelle Anordnung war dieselbe[1]) wie beim Mucor javanicus unter a). Nach 24 Stunden war jedoch weder Wachstum noch Aldehydbildung nachzuweisen. Erst nach 25 Tagen traten Spuren von Aldehyd auf. Der benutzte Stamm von Mucor mucedo war also viel empfindlicher gegen alkalisches Sulfit als Mucor javanicus.

b) Versuchsanordnung wie in Ib), d. h. mit $CaSO_3$. Nach 24 Stunden ließ sich bereits eine geringe Menge Acetaldehyd wahrnehmen. Im Laufe der Zeit wurde die Reaktion deutlicher. Die nach 14 Tagen ausgeführte quantitative Bestimmung ergab 0,063 g Aldehyd aus 5,25 g angewandtem Zucker, also 1,20%.

III. Versuche mit Mucor plumbeus.

a) Benutzte Lösungen wie in Ia), Brutschranktemperatur 25°. Schon 24 Stunden nach der Beimpfung waren Wachstum und Aldehydbildung deutlich festzustellen. Nach 27 Tagen wurde der Aldehyd quantitativ bestimmt. Gefunden wurden 0,158 g Aldehyd für 4,27 g angewandten Zucker, gleich 3,70%. In dem Rückstande der Aldehyddestillation wurde der unangegriffene Zucker zu 2,80 g ermittelt. Es entsprach also der entstandene Acetaldehyd 10,75% der tatsächlich verbrauchten Glucose.

b) Der Ansatz glich dem unter Ib) angeführten. Die Brutschranktemperatur war 25°. 24 Stunden nach der Beimpfung war Wachstum, Aufsteigen von Kohlensäurebläschen und Aldehydgegenwart erkennbar. Die Probe auf Acetaldehyd wurde im Laufe der folgenden 10 Tage stärker, schwächte sich dann allmählich wieder ab und war nach 26 Tagen völlig negativ.

c) Mit denselben Mengen, die unter Ic) verzeichnet sind, wurde auch ein größerer Versuch mit Mucor plumbeus vorgenommen und bei 27° im Brutschrank belassen. Selbst nach 33 Tagen war die Entwicklung des Pilzes augenscheinlich wegen der starken Sulfitkonzentration noch geringfügig. Es wurden deswegen 125 ccm der oben erwähnten Nährlösung und 125 ccm Wasser unter Wahrung der Keimfreiheit hinzugesetzt. Nach weiteren 38 Tagen wurde dann der Acetaldehyd und das Glycerin in je 250 ccm sowie der Alkohol in 500 ccm des Gärguts bestimmt. 36,15% des Zuckers waren unangegriffen. Gefunden wurden an Acetaldehyd 6,22% des angewandten, das sind 9,75% des verbrauchten Zuckers, an Glycerin 12,38% der zugegebenen oder 19,39% der umgesetzten Glucose, an Alkohol 17,33% des eingemaischten, das sind 27,14% des aufgezehrten Kohlenhydrats.

Die Spaltung durch den Mucor plumbeus geschieht also nach der Gleichung der 2. Vergärungsform.

IV. Versuche mit Mucor racemosus.

a) Mucor racemosus begann sich auf 3 proz. Dinatriumsulfit-Nährlösung erst nach 3 Wochen zu entwickeln. Das Wachstum erfolgte auch weiterhin

[1]) Zwecks Vermeidung von Wiederholungen ist jedesmal nur ein Ansatz genauer beschrieben; das gleiche gilt für die Ausführung und Berechnung der Analysen.

außerordentlich langsam, so daß der Ansatz 47 Tage im Brutschrank bei 25° stehen bleiben mußte, ehe zur quantitativen Bestimmung geschritten werden konnte. Es wurden dann 3,09% des angewandten Zuckers an Acetaldehyd festgestellt; 1,92 g Glucose waren unzerlegt geblieben.

b) Im Abfangversuche mit Calciumsulfit wurde hier in kürzerer Frist eine bessere Ausbeute erreicht. Nach 14tägigem Stehen bei 25° waren an Acetaldehyd 3,66% des verbrauchten Zuckers entstanden.

c) Der Versuch wurde angestellt, wie unter Ic) beschrieben ist, und, wie bei Mucor plumbeus im analogen Ansatz c) angegeben, nach 33 Tagen wegen ungenügenden Wachstums mit 250 ccm halbverdünnter Nährlösung versetzt. Nach weiteren 42 Tagen wurde in je 250 ccm die Aldehyd- und Glycerinbestimmung sowie in 500 ccm die Alkoholbestimmung vorgenommen. Es ergab sich ferner, daß 40,45% des eingemaischten Zuckers nicht angegriffen worden waren.

Die Ausbeuten betrugen

bezogen auf	an Aldehyd %	Glyzerin %	Alkohol %
verbrauchten Zucker	2,79	5,77	39,63
angewandten Zucker	1,66	3,45	23,60

Auch beim Mucor racemosus läßt sich also die typische Acetaldehyd-Glycerinspaltung des Zuckers durchführen.

V. Versuche mit Mucor rouxii.

a) Unser Stamm war augenscheinlich gegen Dinatriumsulfit in 3 proz. Konzentration noch empfindlicher als die bisher verwendeten Mucoraceen. Ein Wachstum ist während zweier Monate nicht zu konstatieren gewesen, nach nochmaliger Beimpfung trat eine ganz schwache Entwicklung ein, und es ließ sich dann etwa 2 Wochen später das Auftreten von Acetaldehyd nachweisen.

b) Auf Calciumsulfit enthaltender Lösung gedieh dagegen der Pilz bei einer Temperatur von 25° gut. Nach 24 Stunden waren bereits alle Merkmale der beginnenden Umsetzung vorhanden. Nach 14 Tagen ergab die quantitative Bestimmung 3,28% des verbrauchten Zuckers an Acetaldehyd.

VI. Versuche mit Mucor sylvaticus.

a) Brutschranktemperatur 25°. Die Entwicklung des Pilzes ging in der Na_2SO_3-Lösung nur langsam vonstatten. Erst nach 16 Tagen ließ sich Aldehyd feststellen; nach einer weiteren Woche war die zunächst schwache Reaktion deutlich geworden.

b) In Gegenwart von Calciumsulfit entwickelte sich der Erreger schnell, und schon nach einem Tage war Acetaldehyd zu erkennen, der allerdings nach einiger Zeit wieder verschwand.

VII. Versuche mit Mucor stolonifer.

a) Temperatur 27°. Wiederum erwies sich die Dinatriumsulfitkonzentration als wachstumshindernd; im Verlaufe eines Monats vermochte der Erreger die Schädigung nicht zu überwinden.

b) Im Calciumsulfitansatze war der Pilz nach 24 Stunden gewachsen und es ließen sich bereits Spuren von Acetaldehyd nachweisen. Nach genau 2 Wochen wurde die quantitative Bestimmung ausgeführt. Es ergab sich eine Ausbeute von 1,47% des angewandten Zuckers an Acetaldehyd.

VIII. Versuche mit Endomyces fibuliger.

a) Dinatriumsulfitansatz; Temperatur 22°. Erst sehr allmählich begann der Pilz sich zu vermehren. Nach 3 Wochen waren Spuren von Aldehyd aufzufinden, nach 55 Tagen war die Reaktion deutlich geworden.

b) Calciumsulfitansatz; Temperatur 22°. Am Tage nach der Beimpfung machten sich bereits Wachstum des Erregers und Kohlensäureabgabe bemerkbar; Acetaldehyd war jedoch noch nicht nachzuweisen. Am 4. Tage stellten sich Spuren ein. Nach 32 Tagen ergab die quantitative Bestimmung 1,02% des Ausgangsmaterials an Acetaldehyd.

IX. Versuche mit Rhizopus tritici.

a) Temperatur 25°. Auf Natriumsulfitlösung entwickelte sich der Erreger nicht.

b) Auf dem Calciumsulfit-Nährboden fand kräftiges Wachstum statt. CO_2 wurde bald abgegeben, Aldehydreaktion trat aber erst am 4. Tage auf; sie wurde bis zum 44. Tage allmählich stärker, um dann rasch wieder abzuklingen.

X. Versuche mit Monilia candida.

a) Temperatur 25°. α) Die Versuchsanordnung war die unter Ia) beschriebene. Der Pilz verhielt sich wie Kulturhefen, wurde also in seiner Wirksamkeit durch das Natriumsulfit nicht gestört. Nach 15 Tagen ergab die quantitative Bestimmung 8,47% des verbrauchten Zuckers an Aldehyd.

Ein Calciumsulfitansatz wurde dieses guten Resultates wegen nicht gemacht.

β) Verwendet wurden 300 ccm der oben erwähnten Nährflüssigkeit und 300 ccm der 6 proz. Dinatriumsulfitlösung nebst 3 g steriler Kreide. Das Gemenge blieb 40 Tage bei 37° stehen und wurde dann auf entstandenen Acetaldehyd und Alkohol untersucht.

Bezogen auf die Quantität des eingemaischten Zuckers waren 12,75% an Aldehyd und 10,40% an Alkohol gebildet.

γ) Der Ansatz war so, wie unter β) angegeben. Der Versuch blieb 41 Tage bei 37° stehen. Gefunden wurden 11,48% an Aldehyd, 9,93% an Alkohol und 19,96% an Glycerin, bezogen auf den benutzten Zucker.

Die Alkoholausbeute in einem Kontrollversuch belief sich auf 18,88% vom angewandten Zucker.

δ) Wir gingen wiederum von 300 ccm Nährmischung und 300 ccm 6 proz. Na_2SO_3-Lösung aus, jedoch ohne Zugabe von Calciumcarbonat; die Digestion geschah 34 Tage lang bei 36°. In 275 ccm wurde Aldehyd und Glycerin und in 300 ccm Alkohol und Zucker bestimmt. 37,54% des angewandten Zuckers waren nicht angegriffen worden. [Da Monophosphat (s. S. 213) sich in der Nährlösung befand, so entstand durch doppelte Umsetzung Bisulfit, das — hier nicht durch $CaCO_3$ neutralisiert — wegen seiner Giftigkeit die Quote des umgesetzten Kohlenhydrats herabdrückte.]

Die gefundenen Mengen waren

bezogen auf	an Aldehyd %	Glycerin %	Alkohol %
verbrauchten Zucker	11,65	23,05	24,77
angewandten Zucker	7,28	14,37	15,48

Ersichtlich waltet bei der Vergärung durch diese Moniliaart das molekulare Verhältnis von Aldehyd zu Glycerin (= 44 : 92) ob.

XI. Versuche mit Oidium lactis.

a) Temperatur 25°. α) Auch dieser Pilz entwickelte sich, ohne anscheinend durch 3 proz. Natriumsulfitlösung geschädigt zu werden. 5 Tage nach der Beimpfung war bereits eine starke Aldehydreaktion vorhanden. Nach 15 Tagen wurden 5,33% des verbrauchten Zuckers an Acetaldehyd gefunden.

β) Verwendet wurden 250 ccm der üblichen Nährmischung und 250 ccm der Dinatriumsulfitlösung, dazu 2,5 g $CaCO_3$. Der Ansatz wurde 12 Tage bei einer Temperatur von ca. 20° belassen. Die quantitativen Bestimmungen ergaben an Acetaldehyd 2,42% und an Glycerin 1,71%, bezogen auf den angewandten Zucker.

γ) Dieser Versuch ist eine Wiederholung von β): er wurde deshalb vorgenommen, weil scheinbar eine Unstimmigkeit in der Ausbeute an Aldehyd und Glycerin bestand und ein Analysenfehler vermutet wurde. Der Ansatz blieb diesmal 23 Tage bei 20° stehen. Gefunden wurden 2,34% Acetaldehyd und 1,98% Glycerin unter Zugrundelegung der angewendeten Zuckermenge. Es sind wiederum nahezu dieselben Zahlen gefunden. Man muß daraus schließen, daß die Korrelation wegen Verbrauch des Glycerins gestört ist.

b) Mit Calciumsulfit entwickelte sich Oidium lactis, den sonstigen Erfahrungen entsprechend, gut. Die Stärke der Aldehydreaktion blieb jedoch hinter der auf Na_2SO_3-Zuckerlösung erzielten zurück, und eine quantitative Bestimmung lieferte daher kein nennenswertes Ergebnis.

XII. Versuche mit Torula α.

a) Die Bedingungen entsprachen den unter Ia) angeführten. Temperatur 27°. Es fand ein langsames Wachstum des Pilzes auf dem Natriumsulfit-Nährboden statt. Nach 2 Tagen ließen sich Spuren von Aldehyd nachweisen. Die quantitative Ermittlung nach 14 Tagen zeitigte ein Resultat von 2,97% des angewandten Zuckers an Acetaldehyd.

b) Temperatur 27°. Torula α entwickelte sich im Calciumsulfitgemisch besser. Die Aldehydbestimmung konnte daher bereits nach 7 Tagen vorgenommen werden; erhalten wurden 2,68% Acetaldehyd vom Gewichte des angewendeten Zuckers. Es ließen sich im Rückstand nur kleine Mengen unverbrauchter Glucose nachweisen.

XIII. Versuche mit Torula colliculosa.

a) Temperatur 25°. Wie bei Kulturhefen war auch bei diesem Erreger die Schädigung durch Natriumsulfit eine geringe. Nach 24 Stunden war bereits der Beginn des Zuckerzerfalls festzustellen. Nach 14 Tagen wurde

die quantitative Bestimmung vorgenommen, laut der 5,49% Acetaldehyd, berechnet auf die Menge des angewandten Zuckers, aufgetreten waren.

b) Temperatur 25°. In Gegenwart von Calciumsulfit ging die Entwicklung von Torula colliculosa schneller vor sich. Bereits nach 7 Tagen ließen sich 2,56% Acetaldehyd vom angewendeten Zucker feststellen. Die im Rückstande aufgefundene unzersetzt gebliebene Glucosemenge reichte für eine genaue Analyse nicht aus.

c) Ansatz analog I c) mit einem Gemenge von 500 ccm Nährgemisch und 500 ccm 6 proz. Dinatriumsulfitlösung nebst 5 g $CaCO_3$. Versuchsdauer 31 Tage, Temperatur 26°. Die Entwicklung des Erregers war schwächer als es unter a) für die geringeren dort benutzten Mengen von 200 ccm beobachtet worden ist. Dementsprechend blieben 65,84% des ursprünglichen Zuckers unangegriffen.

Die gefundenen Mengen waren

bezogen auf	an Aldehyd %	Glycerin %	Alkohol %
verbrauchten Zucker	11,50	22,39	22,15
angewandten Zucker	3,94	7,65	7,57

Im Kontrollversuch ergab die Bestimmung 47,13% Alkohol. Die Torula bewirkte jedenfalls einen regelrechten Zerfall des Zuckers nach der 2. Vergärungsform.

XIV. Versuche mit Torula rubra.

a) Temperatur 25°. Dieser Erreger wurde durch das Dinatriumsulfit im Wachstum stark behindert; es fand keine nennenswerte Entwicklung statt. Aldehyd war nur spurenhaft und vorübergehend nachzuweisen.

b) Temperatur 25°. Auf Calciumsulfit enthaltender Nährlösung wuchs Torula rubra zwar bald, gab allerdings auch erst nach 4 Tagen eine schwache Aldehydreaktion, die nach 20 Tagen deutlich geworden war.

XV. Versuche mit Aspergillus cellulosae.

a) Der Pilz entwickelte sich auf dem Na_2SO_3-Nährboden langsam bei 25°, bereits nach 2 Tagen waren jedoch Spuren von Acetaldehyd vorhanden. Nach 34 Tagen ließen sich größere Mengen wahrnehmen, die sich im Laufe eines weiteren Monats wieder verloren.

b) Der Erreger gedieh auf Calciumsulfit bedeutend schneller, gab nach 2 Tagen eine schwache, nach 5 Tagen eine deutliche Reaktion, die während $1^1/_2$ Monaten allmählich abnahm.

XVI. Versuche mit Aspergillus citricus.

a) Bei einer Temperatur von 25° fand in der Natriumsulfit-Nährlösung ein äußerst langsames, bei 36° dagegen ein stärkeres Wachstum statt. Erst nach 28 Tagen wurde Acetaldehyd nachgewiesen, ebenso noch nach einer weiteren Woche.

b) Aspergillus citricus wuchs auf der Calciumsulfit-Kulturflüssigkeit auch bei 25° gut und brachte innerhalb 10 Tagen geringe Mengen Aldehyd hervor. Bei einer Temperatur von 36° wurde die Reaktion nach einem Monat deutlicher und schwächte sich dann allmählich wieder ab.

XVII. Versuche mit Aspergillus fumaricus.

a) Der Erreger entwickelte sich bei 24° langsam in dem Dinatriumsulfitansatz. Acetaldehyd ließ sich erst nach 49 Tagen spärlich nachweisen.

b) Zwar wuchs der Pilz auf Calciumsulfit sehr gut, aber ein Auftreten von Acetaldehyd war nicht feststellbar.

XVIII. Versuche mit Aspergillus niger.

a) Bei 36° fand eine rasche Entwicklung der Pilzdecke auf der Na_2SO_3-Nährlösung statt. Allerdings ließen sich erst nach 28 Tagen Spuren von Acetaldehyd feststellen, die nach kurzer Zeit wieder verschwunden waren.

b) Auf Calciumsulfit wuchs der Pilz ebenfalls bei 36° schnell heran. Auch Kohlensäureabgabe fand statt; trotzdem ließ sich kein Acetaldehyd nachweisen.

XIX. Versuche mit Aspergillus niger mutante.

a) Der Erreger gedieh bei 36° in dem Natriumsulfit-Ansatz nur langsam. Nach 25 Tagen war das Auftreten von Acetaldehyd deutlich wahrnehmbar. Die nach 35 Tagen vorgenommene quantitative Bestimmung ergab freilich nur 0,25% Aldehyd vom angewandten Zucker, obwohl im Rückstande Glucose kaum mehr vorhanden war.

b) Auf dem Calciumsulfit-Nährboden ging die Entwicklung der Pilzdecke bei 36° schneller vor sich, es waren jedoch nur Spuren von Acetaldehyd zugegen.

XX. Versuche mit Penicillium variabile.

a) Temperatur 25°. Es war ein deutliches Wachstum des Pilzes auf der Dinatriumsulfitlösung, aber kein Auftreten von Acetaldehyd zu bemerken.

b) Nach 25 Tagen stellten sich bei 25° im Ansatz mit Calciumsulfit geringe Mengen an Aldehyd ein, die nach 33 Tagen wieder verschwunden waren.

XXI. Versuche mit Merulius lacrimans.

a) Bei 24° vollzog sich auf der Natriumsulfit enthaltenden Nährlösung eine langsame Ausbreitung der Pilzdecke; Acetaldehyd ließ sich aber nicht feststellen.

b) Auf Calciumsulfit wuchs der Erreger bei 24°, und es zeigte sich nach 1 Woche ein deutliches Auftreten von Aldehyd. Auch nach weiteren 14 Tagen war die Reaktion noch merklich, um dann während der folgenden 17 Tage völlig zu verschwinden.

XXII. Versuche mit Kahmhefen.

1. Pilsner Kahmhefe.

a) 1. Versuchsanordnung entsprechend Ia); Brutschranktemperatur 25°. Der Pilz wuchs auf der Dinatriumsulfit-Zuckerlösung, trotzdem ließ sich kein Acetaldehyd feststellen. Nach Ablauf von 6 Tagen wurden 2 ccm absoluten Alkohols unter Wahrung der Keimfreiheit hinzugefügt. Bereits nach 24 Stunden traten nunmehr Spuren von Acetaldehyd auf. Nach 19 Tagen war die Reaktion ganz stark geworden und wurde dann im Laufe eines Monats wieder schwächer.

2. Der Versuch wurde mit 100 ccm einer Nährlösung, die unter Fortlassung des Zuckers im übrigen völlig der zuvor beschriebenen glich, und mit 100 ccm der 6 proz. Dinatriumsulfitlösung unter Zugabe von 1 g $CaCO_3$ und an Stelle der Glucose mit 2 ccm absolutem Alkohol als kohlenstoffhaltigem Nährsubstrat angesetzt; Temperatur 25°. Nach 3 Tagen ließ sich schwache Aldehydbildung feststellen. Nach weiteren 6 Tagen hatte sich die Menge des gebildeten Acetaldehyds vergrößert, nach nochmals 4 Tagen war die Nitroprussidreaktion bereits wieder schwächer geworden, um im Laufe von 5 Tagen völlig zu verschwinden.

b) 1. Wurde entsprechend Ib) angestellt. Temperatur 25°. Trotz deutlichen Wachstums der Pilsner Kahmhefe auf dem Zucker-Calciumsulfit-Nährboden setzte keine Aldehydbildung ein. Erst nach Zugabe von 2 ccm absolutem Alkohol am 6. Tage war dann am 7. deutlich Aldehyd zu verzeichnen; nach 3 Wochen war er allerdings nicht mehr vorhanden.

2. Die Versuchsanordnung entsprach der von b) 1., nur daß in der Calciumsulfit-Nährlösung die Glucose sofort durch 2 ccm absoluten Alkohols ersetzt war. Bereits innerhalb 24 Stunden hatte sich Acetaldehyd angesammelt. Die Menge des entstandenen Aldehyds wurde im Laufe von 12 Tagen größer und verschwand allmählich wieder.

2. Weinkahmhefe III.

a) 1. Versuchsanordnung analog Ia). Gleich der Pilsner Kahmhefe bildete auch die Weinkahmhefe bei 25° in der Dinatriumsulfit-Zucker-Lösung keinen Aldehyd, erst nach Zugabe 2 ccm absoluten Alkohols war Acetaldehyd in der Reihenfolge deutlich, stark und abklingend wahrzunehmen.

2. Es wurde wie bei der Pilsner Kahmhefe [siehe a) 2] ein Versuch mit Dinatriumsulfit unter Ersatz des Zuckers durch Alkohol angestellt. Nach 3 Tagen war die Aldehydreaktion deutlich, nach weiteren 6 Tagen kräftig, 4 Tage später wiederum schwach und nach abermals 5 Tagen verschwunden.

b) 1. Auch bei der Weinkahmhefe fand auf dem Calciumsulfit-Zucker-Nährboden wohl eine gute Entwicklung des Erregers, aber keine Aldehydbildung statt. Nach Zugabe von 2 ccm Alkohol ließen sich anfangs geringe, dann größere und schließlich wieder abnehmende Mengen von Acetaldehyd nachweisen.

2. Versuch auf Calciumsulfit mit Alkohol an Stelle von Zucker. Nach 24 Stunden war eine schwache, nach 3 Tagen deutliche, 6 Tage darauf kräftige und während weiterer 9 Tage eine allmählich zurückgehende Aldehydbildung zu konstatieren.

3. Kahmhefe vergärend.

a) 1. Versuchsanordnung wie Ia). Nach 3 Tagen ließen sich bei 25° auf der Na_2SO_3 enthaltenden gezuckerten Nährlösung Wachstum und Spuren von Acetaldehyd feststellen. Erst nach 9 Tagen begann die Reaktion kräftiger auszufallen. 2 Wochen nach Ansatz des Versuches war die Nitroprussidprobe stark geworden und büßte dann langsam wieder an Intensität ein.

2 Der Versuch wurde mit Natriumsulfit unter Zugabe von Weingeist anstatt Glucose bei 25° angesetzt. Nach 3 Tagen waren Spuren von Acetaldehyd aufgetreten, im Laufe der folgenden 20 Tage wurde die Menge des Aldehyds dauernd größer.

b) 1. In dem Zucker-Calciumsulfit-Ansatz erfolgte bereits in 24 Stunden eine schwache Aldehydentwicklung. Sie nahm bis zum 20. Tage nach Versuchsbeginn zu, um dann allmählich wieder schwächer zu werden.

2. Ein entsprechender Versuch mit alkoholhaltiger, aber zuckerfreier Nährlösung und Calciumsulfit lieferte bei 25° schon nach 24 Stunden Spuren und im Laufe mehrerer Tage allmählich anwachsende Mengen von Acetaldehyd.

4. Kahmhefe nicht vergärend.

a) 1. Auf dem Dinatriumsulfit und Zucker enthaltenden Nährboden wuchs der Erreger langsam. Es trat aber erst am 11. Tage nach der Beimpfung eine ganz minimale Aldehydbildung ein.

2. In dem alkoholischen Dinatriumsulfitansatz waren bei einer Temperatur von 25° 4 Tage nach der Beimpfung Spuren von Acetaldehyd, im Laufe der darauffolgenden Woche größere Mengen bemerkbar, die dann während weiterer 10 Tage völlig verschwanden.

b) 1. Nach 24 Stunden ließ sich in dem Calciumsulfit-Zucker-Gemisch eine geringe Aldehydbildung feststellen, die bei weiterer Digestion nicht zunahm.

2. Nach 24 Stunden waren in dem Weingeist statt Glucose enthaltenden Calciumsulfitansatz geringe Mengen von Aldehyd angesammelt. Nach 4 Tagen war die Nitroprussidreaktion unverkennbar; sie wurde im Verlaufe zweier Wochen allmählich wieder undeutlich.

Somit zeigt sich folgendes:

Pilze mit ausgeprägt oxydativem Stoffwechsel können Acetaldehyd hervorbringen, verbrauchen ihn aber offenbar wieder.

Erreger, die gleich Hefe anaerob zu leben vermögen, sind befähigt, gebildeten Aldehyd anzureichern. Selbst bei minimaler Aussaat der einzelnen Pilze, die also erst in den Maischen heranwachsen müssen, kommt es unter dem Einflusse der „Abfangmittel“ zu einer korrelativen Bildung beträchtlicher Mengen von Acetaldehyd und Glycerin; die Verhältnisse liegen genau wie bei der Zuckerspaltung durch erhebliche Quantitäten von Kulturhefen. Diese zweite Vergärungsform haben wir mit einer Anzahl neuer Mikroorganismen, wie mit Mucor javanicus, Mucor plumbeus, Mucor racemosus, Monilia candida und Torula colliculosa, verwirklicht.

Zur Kenntnis des heterogenetischen Hammelblutantigens.

Von

Kurt Meyer.

(Aus der Bakteriologischen Abteilung des Rudolf Virchow-Krankenhauses in Berlin.)

(Eingegangen am 25. Juni 1921.)

Einen wesentlichen Fortschritt in der Erkenntnis des von Forssman in den Meerschweinchenorganen entdeckten, Hammelbluthämolysinbildung hervorrufenden und solche Hämolysine bindenden Antigens bildete die Beobachtung von Sordelli und Fischer[1]), daß dieses Antigen alkohollöslich ist.

Die Autoren fanden, daß bei der Alkoholextraktion das Bindungsvermögen der das Antigen enthaltenden Organe für die heterogenetischen Hammelbluthämolysine verschwindet und daß andererseits der alkoholische Extrakt die Hämolyse durch diese Hämolysine hemmt, also anscheinend die Hämolysine bindet. Gleichzeitig führten sie den zwar nicht überraschenden, aber von keinem der zahlreichen bisherigen Bearbeiter dieses Gebiets erbrachten Nachweis, daß die mit dem heterogenetischen Antigen erzeugten Antisera auch komplementbindende Antikörper für dieses Antigen enthalten. Dieser Befund ist deshalb von Bedeutung, weil sich nunmehr bei allen Hämolysinbindungsreaktionen die Frage erhebt, ob es sich tatsächlich um ein Ausbleiben der Hämolyse durch Bindung der hämolytischen Amboceptoren und nicht vielmehr durch Komplementbindung handelt. Sieht man die in der Literatur niedergelegten Versuche daraufhin durch, so kann es keinem Zweifel unterliegen, daß in vielen Fällen jene Frage offen bleiben muß oder sogar im zweiten Sinne zu beantworten ist. So ist offenbar auch die Beobachtung von Sordelli und Fischer selbst, daß die alkoholischen Organextrakte die Hämolyse durch heterogenetisches Hammelbluthämolysin hemmen, nicht als Amboceptor-, sondern als Komplementbindung zu deuten, was die Autoren selbst übersehen haben.

Wenn auch angesichts des Parallelgehens der beiden Antikörperarten das vorliegende Tatsachenmaterial über die heterogenetischen Hämolysine

[1]) A. Sordelli und G. Fischer, Rev. del Instit. Bacteriol. di Buenos Aires 1. 229. 1918. — A. Sordelli, G. Fischer, H. Wernicke und C. Pico, Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. 84, 173. 1921.

durch Berücksichtigung jener Fehlerquelle kaum eine Abänderung erfahren dürfte, so wird es sich doch empfehlen, falls man die Hämolysine allein zu untersuchen wünscht, daß man zunächst das Serum vor dem Komplementzusatz auf die Hammelblutkörperchen einwirken läßt, diese abzentrifugiert, wäscht und nun erst mit Komplement versetzt.

Wohl unabhängig von Sordelli und Fischer stellte auch W. Georgi[1]) die Alkohollöslichkeit der „Hammelblutreceptoren" in den Organen fest, während H. Sachs und F. Guth[2]) sowie H. Schmidt[3]) Fällungsreaktionen der heterogenetischen Sera mit alkoholischen Organextrakten beschrieben und näher untersuchten. Endlich fanden Friedberger und Suto[4]), daß das beim Kaninchen Hammelhämolysinbildung hervorrufende Prinzip des Pferdeurins in den Alkoholextrakt übergeht.

Diese Befunde machten es wahrscheinlich, daß das heterogenetische Antigen lipoider Natur ist. Da ich in früheren Untersuchungen Lipoide von antigener Wirkung nur in der Leibessubstanz von Bandwürmern[5]) sowie bei säurefesten Bacillen[6]) nachweisen konnte, während mir dies bei anderen Bakterienarten sowie in den Organen anderer Tierarten — ich untersuchte seinerzeit Organe von Mensch, Rind, Schwein und Hammel — nicht gelang, so schien es mir wünschenswert, die Versuche der genannten Autoren weiterzuführen mit dem Ziel, auch hier die antigenen Lipoide in möglichst reiner Form darzustellen. Schien doch damit die Möglichkeit gegeben, da es sich um ein in beliebiger Menge zur Verfügung stehendes Ausgangsmaterial handelt, die Lipoide in größeren Quantitäten zu gewinnen und einer genaueren Untersuchung zu unterziehen.

In der vorliegenden Mitteilung soll nur kurz über das Isolierungsverfahren, das sich an das früher beschriebene anlehnte, und über einige an den reinen Lipoiden bezüglich ihres Verhaltens bei der Komplementbindungsreaktion gemachte Beobachtungen berichtet werden.

Als Ausgangsmaterial dienten sowohl Pferde- wie Meerschweinchenniere, aus denen zunächst in der üblichen Weise alkoholische Extrakte (1 : 10) hergestellt wurden, mit denen sich die Angaben von Sordelli und Fischer bezüglich der mit hetero-

---

[1]) W. Georgi, Arb. a. d. Inst. f. exp. Therap. Frankfurt a. M. 1919, H. 9, S. 33.

[2]) H. Sachs und F. Guth, Med. Klin. **12**, 157. 1920.

[3]) Hans Schmidt, Beitr. z. Klin. d. Tuberkul. **97**, 433. 1921.

[4]) Friedberger und Suto, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therap. **28**, 237. 1919.

[5]) Kurt Meyer, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therap. **7**, 732. 1910; **9**, 330. 1911; **11**, 211. 1911; **14**, 355. 1912; **19**, 313. 1913; **20**, 367. 1913; **21**, 654. 1914.

[6]) Kurt Meyer, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therap. **14**, 359. 1912; **15**, 245. 1912.

genetischen Seren eintretenden Komplementbindung ohne weiteres bestätigen ließen.

Die alkoholischen Extrakte wurden nunmehr im Vakuum zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde mit Benzol aufgenommen, der Benzolextrakt wieder im Vakuum eingeengt und der Rückstand mit Aceton extrahiert, solange dieses noch Substanz aufnahm. Dann wurde er mit niedrig siedendem Petroläther behandelt, wobei eine geringe Menge ungelöst zurückblieb, und die Lösung mit Alkohol gefällt. Der Niederschlag wurde abzentrifugiert und mit Alkohol gewaschen. Die vereinigten alkoholischen Lösungen wurden im Vakuum eingeengt.

Es ergaben sich somit 4 Fraktionen, 1 acetonlösliche (Fraktion I) und 3 acetonunlösliche, von denen die eine in Petroläther unlöslich (Fraktion II), die beiden anderen löslich, aber nur die eine von ihnen (Fraktion III) in Alkohol löslich war, während die andere (Fraktion IV) durch Alkohol gefällt wurde.

Um ein Bild von dem übrigens schwankenden relativen Mengenverhältnis der einzelnen Fraktionen zu geben, sei angeführt, daß aus einem 4,09 g betragenden alkoholischen Extraktrückstand von Fraktion I 0,74 g, von Fraktion II 0,18 g, von Fraktion III 1,42 g, von Fraktion IV 0,73 g gewonnen wurden, während der Rest in Benzol unlöslich war, also wohl hauptsächlich aus Salzen und Eiweißkörpern bestand.

Was die chemische Natur der einzelnen Fraktionen betrifft, so lassen sich auf Grund der Löslichkeitseigenschaften nur recht unsichere Angaben machen. Fraktion I muß Fette, Fettsäuren, Cholesterin und dessen Ester enthalten, während die Fraktionen II, III und IV wohl als Lipoide im engeren Sinne anzusehen sind. In Fraktion III und IV sind wohl hauptsächlich Phosphatide zu suchen, und zwar in jener solche vom Charakter des Lecithins, in dieser Verbindungen wie Kephalin, Cuorin u. a.

Die verschiedenen Fraktionen wurden zunächst auf ihre antigene Wirksamkeit im Komplementbindungsversuch untersucht. Als Antisera dienten Meerschweinchen- und Pferdenierensera vom Kaninchen.

Nachstehend soll nur ein Versuch mit Meerschweinchennierenlipoiden und Meerschweinchennierenserum wiedergegeben werden.

Zunächst wurden die einzelnen Fraktionen auf Eigenhemmung geprüft. Sie wurden zu diesem Zweck in der 10fachen Menge

Alkohol gelöst und die Lösung mit NaCl-Lösung verdünnt. Nur die alkoholunlösliche Fraktion IV wurde direkt in NaCl-Lösung verrieben.

Als hämolytisches System diente sensibilisiertes Rinderblut, worauf ich besonderes Gewicht legen möchte. Das von Sordelli und Fischer benutzte sensibilisierte Hammelblut scheint mir wegen der Mitwirkung der heterogenetischen Hammelbluthämolysine und der dadurch bedingten unkontrollierbaren Verschiebung der Sensibilisierung besser nicht verwendet zu werden.

Tabelle I.

0,5 ccm Komplement 1 : 10 + Verdünnung 1 : 500	Fraktion: I	II	III	IV
0,2 ccm	0	0	k. H.	0
0,1 „	0	f. k. H.	k. H.	0
0,05 „	i. H.	k. H.	k. H.	0
0,02 „	k. H.	k. H.	k. H.	i. H.

0 = keine, f. k. H. = fast komplette, i. H. = inkomplette, k. H. = komplette Hämolyse.

Aus der Tabelle ergibt sich, daß Fraktion I und besonders Fraktion IV starke Eigenhemmung zeigten. Der eigentliche Komplementbindungsversuch wurde mit unterhemmenden Dosen angesetzt. Das Meerschweinchennierenserum wurde in einer Menge von 0,5 ccm der Verdünnung 1 : 10, die an sich keine Hemmung ausübte, verwendet (Tabelle II).

Tabelle II.

0,5 ccm Meerschweinchennierenserum + 0,5 ccm Komplement 1 : 10 + Verdünnung 1 : 5000	Fraktion: I	II	III	IV
0,5 ccm	i. H.	0	0	
0,2 „	k. H.	i. H.	0	0
0,1 „	k. H.	k. H.	i. H.	f. k. H.
0,05 „	k. H.	k. H.	f. k. H.	k. H.

Im Komplementbindungsversuch erwies sich somit die acetonlösliche Fettfraktion als völlig unwirksam, während die acetonunlöslichen Lipoide mehr oder weniger stark reagierten. Bei Fraktion II war die Reaktionsfähigkeit etwas schwächer als bei den anderen Lipoiden, während Fraktion III und IV gleiche Wirksamkeit zeigten, wobei allerdings die Reaktion mit Fraktion IV wegen ihres starken Eigenhemmungsvermögens mit Vorsicht zu beurteilen ist. Der Befund entspricht völlig dem früher bei den

Bandwurm- und Tuberkelbacillenlipoiden erhobenen. Auch hier sind es die Phosphatide vom Charakter des Lecithins und Kephalins, die als Träger der antigenen Wirksamkeit der alkoholischen Extrakte anzusehen sind. Nach der Art der Darstellung und aus den früher erörterten Gründen ist es in hohem Maße unwahrscheinlich, daß die Wirksamkeit durch beigemengte Eiweißspuren bedingt wird.

Ob das Reaktionsvermögen der Meerschweinchen- und Pferdeorgane im Komplementbindungsversuch ausschließlich auf die Lipoide zurückzuführen ist, möchte ich zunächst dahingestellt sein lassen. Zwar konnte auch ich mich von der Beobachtung Sordellis und Fischers überzeugen, daß es durch Alkoholextraktion der Organe aufgehoben wird, doch wäre es immerhin möglich, daß der Wirksamkeitsverlust durch Koagulation der Eiweißkörper bedingt ist.

Meerschweinchen- und Pferdenierenlipoide verhalten sich völlig identisch, d. h. das relative Verhältnis der Reaktionsstärke der Meerschweinchen- und Pferdenierenantisera ist bei Prüfung mit den homologen und heterologen Lipoiden das gleiche. Dagegen geben die Sera mit den aus Menschenniere in analoger Weise hergestellten Lipoiden keine Komplementbindung und diese reagieren auch nicht mit Menschennierenantiserum, das seinerseits mit wässerigem Menschennierenextrakt starke Komplementbindung gibt. Die charakteristischen Lipoide sind also auf die Organe beschränkt, bei denen das Vorhandensein des heterogenetischen Antigens bekannt ist.

Was das Verhältnis der mit den Lipoiden unter Komplementbindung reagierenden Antikörper zu den heterogenetischen Hammelhämolysinen betrifft, so scheint jedenfalls ein enger Parallelismus in ihrer Menge zu bestehen. So betrug bei zwei Pferde- und einem Meerschweinchennierenantiserum der hämolytische Titer für 0,5 ccm 5proz. Hammelblut 0,2, 0,1 und 0,05 ccm einer Verdünnung 1 : 100, während die geringste Serummenge, die mit 0,1 ccm einer Verdünnung 1 : 500 von Fraktion III völlige Komplementbindung gab, sich auf 0,1, 0,05 und 0,02 ccm einer Verdünnung 1 : 10 belief.

Daß auch die Hämolysine mit den Lipoiden in Reaktion treten, läßt sich durch den Absättigungsversuch, den schon Sordelli und Fischer, allerdings, wie oben erörtert, in nicht be-

weisender Anordnung angestellt haben, nachweisen. Ich führte den Versuch in der Weise aus, daß je 2 hämolytische Dosen eines Pferdenierenantiserums 2 Stunden mit fallenden Mengen Pferdenierenlipoid (Fraktion III) digeriert und dann mit einer Dosis Blutkörperchen 1 Stunde bei 37° gehalten wurden. Hiernach wurden die Blutkörperchen abzentrifugiert, gewaschen und mit Komplement versetzt. Die Röhrchen, bei denen das Hämolysin mit Lipoidmengen bis zu 0,05 ccm einer Verdünnung 1 : 500 herab versetzt waren, blieben ungelöst, die nächsten zeigten partielle Hämolyse, und erst eine Lipoidmenge von 0,05 ccm einer Verdünnung 1 : 5000 hatte keinen Einfluß auf die Sensibilisierung ausgeübt.

Kontrollversuche ergaben, daß Menschennierenlipoide diese Wirkung nicht ausübten und daß andererseits die Pferdenierenlipoide die isogenetischen Hammelbluthämolysine des Rinderblutantiserums unbeeinflußt ließen.

Das Lipoid war also mit den heterogenetischen Hämolysinen eine so feste Bindung eingegangen, daß diese durch die später zugesetzten Blutkörperchen nicht mehr gelöst wurde.

Die bisher beschriebenen Versuche betreffen die antigene Wirkung der Lipoide nur insofern, als es sich um ihr Reaktionsvermögen gegenüber spezifischen Antikörpern handelt. Die zweite Seite der Antigenwirkung, ihre Fähigkeit, im Tierkörper Antikörperbildung hervorzurufen, konnte an den Nierenlipoiden bisher nicht nachgewiesen werden. Allerdings ist die Zahl meiner Versuche bisher nur gering. Je 2 Kaninchen erhielten in Abständen von 5 Tagen je 1 cg Fraktion III und Fraktion IV intravenös injiziert; bei keinem der 4 Tiere traten komplementbindende Antikörper im Serum auf.

Daß die Antikörperbildung hervorrufende Wirkung der reinen Lipoide nur mäßig stark ist, haben die Erfahrungen mit den Bandwurm- und Tuberkelbacillenlipoiden gezeigt, bei denen ihr Nachweis auch erst nach vergeblichen Versuchen gelang, so daß ich meine negativen Ergebnisse noch nicht als endgültig ansehen möchte. Zu erwähnen ist, daß auch Sordelli und Fischer mit den alkoholischen Extrakten keine Antikörperbildung hervorzurufen vermochten, wohl aber bei gleichzeitiger Injektion der an sich ebenfalls unwirksamen, mit Alkohol extrahierten Organe.

Zusammenfassung.

Alkoholische Extrakte aus Meerschweinchen- und Pferdeniere reagieren mit Meerschweinchen- und Pferdenierenantiseren unter Komplementbindung.

Die Wirksamkeit der Extrakte ist gebunden an die acetonunlöslichen Lipoide, während die acetonlöslichen Fette und Lipoide unwirksam sind. Menschennierenlipoide reagieren weder mit den Meerschweinchen- und Pferdenieren- noch mit Menschennierenseren. Das Vorkommen der antigen wirkenden Lipoide fällt also mit dem des heterogenetischen Antigens zusammen.

Die mit Alkohol extrahierten Organe geben mit den Antiseren keine Komplementbindung mehr, doch könnte die Unwirksamkeit der extrahierten Eiweißkörper durch Koagulation bedingt sein.

Komplementbindungsvermögen und Hammelhämolysingehalt der heterogenetischen Sera gehen einander parallel. Die Hämolysine werden durch die Lipoide gebunden.

Mit den reinen Lipoiden konnte Antikörperbildung beim Kaninchen bisher nicht erzielt werden.

Fortgesetzte Untersuchungen über die Permeabilität der Zellen und Gewebe.

VIII. Mitteilung.

Beiträge zur Frage der Verteilung von Hormonen und pharmakologischen Stoffen im Blute.

Von

Hans Schaeppi.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Bern.)

(Eingegangen am 20. Mai 1921.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Die nachfolgende Arbeit will untersuchen, wie körperfremde, künstlich in das Blut eingeführte Substanzen sich auf ihre einzelnen Komponenten, d. h. auf die corpusculären und auf die flüssigen Bestandteile des Blutes verteilen. Dieses Problem stellt gleichzeitig eine Frage der Permeabilität der Blutkörperchen dar, wobei es sich um die Entscheidung der wichtigen Tatsache handelt, ob die zu prüfenden Stoffe in die Blutkörperchen einzudringen vermögen oder ob sie, sich bloß in der Blutflüssigkeit lösend, sich verteilen. Die praktische Bedeutung dieser Untersuchung liegt in der Aufklärung des Problems, auf welche Art und Weise intravenös einverleibte oder subcutan, intramuskulär oder vom Darmkanale aus ins Blut resorbierte Pharmaka und resorptiv wirkende Gifte im Blute transportiert werden und zu den Organen gelangen, die für sie Receptoren tragen. Zugleich vermag sie vielleicht durch Analogieschlüsse Auskunft zu geben, wie der Körper in dem Blute seine normalen Funktionsmittel, die Hormone, an ihren Angriffsort befördert.

Entsprechend der Aufgabestellung war diese Verteilungsfrage vermittels einer biologischen Reaktion zu prüfen. Die mikrochemische Seite dieser Untersuchung habe ich deshalb beiseite ge-

lassen und dürfte, wenn praktisch überhaupt durchführbar, einer späteren Arbeit vorbehalten sein.

Das Prinzip für die Untersuchungsmethodik dieses Verteilungsproblemes baut sich auf folgendem Gedankengange auf. Wir setzen einer abgemessenen Blutmenge ein bestimmtes Quantum einer pharmakologisch wirksamen Substanz zu. Mit Hilfe eines biologischen Reagens registrieren wir graphisch die Größe der Wirkungen von gleichen Mengen dieses Blutgemisches und des daraus durch Sedimentierung gewonnenen Blutplasmas resp. Serums. Aus dem Vergleiche der Wirksamkeit der beiden Flüssigkeiten auf das Reagens ist die Konzentration resp. der Gehalt des Blutplasmas an wirksamer Substanz leicht rechnerisch zu ermitteln. Vergegenwärtigen wir uns a priori die Möglichkeiten der durch die Untersuchung zu gewinnenden Resultate:

Finden wir, daß gleiche Mengen des Gesamtblutes den gleichen quantitativen Effekt hervorrufen wie gleiche Mengen Blutplasma resp. Blutserum desselben Mischblutes, so müssen wir annehmen, daß beide Vergleichsflüssigkeiten den wirksamen Stoff in gleicher Konzentration enthalten, d. h. daß gleiche Quanten Gesamtblut gleichviel Milligramm wirksame Substanz enthalten wie die gleichen Mengen Blutplasma resp. Blutserum. Dieses Ergebnis bedeutet mit anderen Worten, daß der zugesetzte wirksame Stoff sich gleichmäßig auf die flüssigen und die körperlichen Bestandteile des Blutes verteilt hat und daß die Blutkörperchen für diese Substanz permeabel sind. Sollte dagegen die Untersuchung bei Verwendung von gleichen Mengen Gesamtblut und Blutplasma eine quantitative Verschiedenheit in der Wirksamkeit ergeben, so läßt dieses Resultat keine andere Deutung zu, als daß die Verteilung der wirksamen Substanz auf die einzelnen Komponenten des Blutes eine verschiedene sein muß. Dabei ergeben sich folgende 3 Möglichkeiten:

Der zugesetzte, pharmakologisch wirksame Stoff vermag nicht in die geformten Blutelemente einzudringen, da die Blutkörperchen für diesen impermeabel sind, sondern er verteilt sich nur im Blutplasma resp. Blutserum. In diesem Falle müßten wir finden, daß gleiche Mengen Blutplasma stärker wirken als gleiche Mengen nicht sedimentiertes Gesamtblut. Und zwar ist die Wirksamkeit des Blutplasmas pro Maßeinheit gegenüber der gleichen Menge Gesamtblut um so größer, je kleiner die volumprozentische Plasma-

menge im Verhältnis zum Gesamtblut ist. Diese volumprozentische Plasmamenge läßt sich mit Hilfe des Hämokritverfahrens leicht berechnen.

Es wäre aber auch denkbar, daß die corpusculären Bestandteile des Blutes die gesamte zugefügte Substanzmenge an sich reißen und in sich aufnehmen, so daß das Blutplasma resp. das Blutserum völlig frei von dieser bliebe. In diesem Falle müßte uns die Untersuchung ergeben, daß gewisse Mengen von Gesamtblut am biologischen Reagens eine bestimmte Wirkung hervorrufen, während die entsprechenden Mengen von Blutplasma resp. Blutserum derselben Blutmischung dagegen gar keinen Effekt auslösen.

Als 3. Möglichkeit kommt in Betracht, daß die zugesetzte Substanz sich auf beide Komponenten des Blutes verteilt, aber in ungleichem und eventuell für jeden wirksamen Stoffen in verschiedenem Verhältnis. In diesem Falle würde das oben angegebene Prinzip der Untersuchungsmethodik für sich allein nicht genügen. Man wäre genötigt, die Blutkörperchen durch Zentrifugierung und durch mehrfaches Auswaschen mit isotonischer physiologischer Ringerlösung vom Blutplasma völlig zu trennen. Dann müßte man in einer zweiten Versuchsreihe auch die Wirkungen gleicher Mengen von Gesamtblut und von auf obige Weise reingewonnenen Blütkörperchen nach der gewöhnlichen Methodik miteinander vergleichen und könnte darauf die Proportionen der Verteilung berechnen. Wie wir aber später sehen werden, ist die Durchführung dieser Isolierung und der gesonderten Untersuchung der Blutkörperchen nicht notwendig geworden.

Als biologisches Reagens wählte ich das Präparat eines glatten Muskels, indem sich der zeitliche Eintritt und die Größe seiner Kontraktion als ein sehr gutes Maß für die quantitative Beurteilung der Wirksamkeit von Stoffmischungen erwiesen. Wie viele Vorversuche ergaben, ist das nervenhaltige Präparat für diese Zwecke viel zu unsicher. Bei diesem beeinflußten exo- und endogene Ursachen, die weil unbekannt nicht auszuschalten waren, so sehr den Ablauf der Kontraktionen und erschwerten so stark die quantitative Beurteilung der Wirkung, daß ich im Interesse der Genauigkeit glaubte, dieses Präparat nicht verwenden zu dürfen. So benutzte ich den entnervten glatten Muskel, und zwar in Form des von Fühner angegebenen nervenfreien Blutegelpräparates. Dieses erwies sich mir im Laufe der Versuche für meine Untersuchung als

sehr praktisch. Ich will daher an dieser Stelle die Herstellung des Fühnerschen Präparates in Kürze besprechen.

Durch glatten Scherenschlag werden der Kopf- und der Bauchsaugnapf eines Blut- oder eines Pferdeegels entfernt. Der übrige Körper wird durch quere Schnitte in mehrere Einzelstücke zerlegt, so daß ein solches Teilstück eine Länge von 10—12 Ringel bekommt. Ein Blutegel mittlerer Größe liefert so 4 solcher Einzelstücke, die sofort in Ringerlösung gebracht werden. Das eine dieser Teilstücke wird der Länge nach von der Bauchseite her mit einer Schere aufgeschnitten, so daß man die beiden Hälften der Bauchfläche auseinanderklappen kann. Dann wird der Darmtraktus sorgfältig abpräpariert und durch Scherenschnitte zuletzt die Bauchstücke abgetrennt. So entsteht ein rechteckiges Präparat, das bloß aus Haut und Muskelschicht der Rückfläche besteht und völlig nervenfrei ist. Der so gewonnene Muskel wird dann in die später zu beschreibende Apparatur eingefügt. Die übrigen

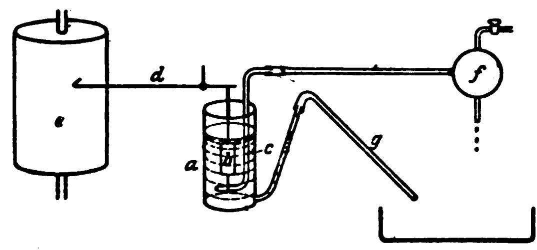


Abb. 1. *a* tabakpfeifenförmiges Glasgefäß mit Badeflüssigkeit. *b* Muskelpräparat. *c* Sförmig gebogenes luftdurchführendes Glasrohr. *d* Schreibhebel. *e* Schreibtrommel. *f* Luftpumpe am Wasserhahn. *g* Absaugrohr.

3 Teilstücke werden, in Ringerlösung getaucht, in den Kühlschrank gebracht und bleiben bei dieser Aufbewahrung etwa 4—5 Tage verwendungsfähig.

Das ebenfalls von Fühner angegebene Froschmagenpräparat erwies sich mir als für meine Versuchsanordnung zu kurzlebig, weshalb ich auf Kontrollversuche mit diesem Präparate verzichten mußte.

Die Versuchsanordnung habe ich ebenfalls, außer einigen Modifikationen, von Fühner übernommen, wie er sie für seine Untersuchung über die potenzierende Wirkung des Physostigmins in Kombination mit anderen erregenden Stoffen verwendete.

Die Aufhängung des rechteckigen Muskelpräparates erfolgt vermittels einer durchgestochenen Fadenschlinge nach unten stabil an das eine Ende einer Sförmig gekrümmten Glasröhre nach oben frei beweglich an den einen Arm des Schreibhebels. Durch dieses Hebelsystem werden die Kontraktionen des Muskelpräparates nach den üblichen Prinzipien auf ein Kymographion übertragen und auf einem berußten Papierstreifen graphisch festgehalten. Das so fixierte Präparat hängt in einem tabakpfeifenartig geformten Glasgefäß von ca. 150 ccm Inhalt in Ringerlösung. Bei dieser Versuchsanordnung läßt sich die Badeflüssigkeit des Muskels durch Absaugen und durch sorgfältiges Zugießen von neuer Flüssigkeit leicht erneuern, ohne die Stabilität des Aufhänge- und Übertragungssystemes

merklich zu stören. Die bei der langen Versuchsdauer notwendige O_2-Versorgung des Präparates erfolgt einerseits durch den bei den Versuchen häufig nötigen Wechsel der Badeflüssigkeit und durch direktes Durchleiten von Luft, andererseits durch die Sförmig gebogene Aufhängeröhre. Bei vorsichtiger Regulierung einer durch Leitungswasser betriebenen Luftpumpe läßt sich das Tempo der in der Badeflüssigkeit aufsteigenden Luftblasen so ausprobieren, daß diese keinen störenden Einfluß auf die Aufhängevorrichtung auszuüben vermögen.

Mit der Wahl des oben beschriebenen biologischen Reagens schränkt sich die Zahl der zur Untersuchung verwendbaren Substanzen auf die den glatten Muskel erregenden Stoffe ein. Durch die Ausschaltung des nervenhaltigen Muskelpräparates gehen für mein Problem auch die vom Nerven aus erregend wirkenden Substanzen, speziell Pilocarpin verloren. Eine weitere Einschränkung der verwendungsmöglichen Stoffe wird gegeben durch ihr Verhalten zum Blute. So mußte ich wegen der beim Zusetzen eintretenden Hämolyse auf Phenyläthylamin verzichten, das sich mir in den Vorversuchen als eine äußerst wirksame Substanz erwies. Ich wählte daher als Indikatoren Bariumchlorid als Vertreter eines anorganischen Salzes, Nicotinum hydrochloricum als Typus eines Alkaloides und Cholinbromhydrat als Repräsentant eines Hormones.

Bevor ich zur Besprechung der Methodik der Hauptversuche übergehe, muß ich kurz die Vorversuche streifen. Das frisch zubereitete Muskelpräparat wird nach der oben beschriebenen Weise in einer konstanten Menge Ringerlösung (100 ccm) aufgehängt und in Ruhe sich selbst überlassen, bis es die durch die Präparation und Fixierung hervorgerufene Erregung verloren hat, und der Schreibhebel auf dem Kymographion eine gerade Linie registriert. Als für meine Versuche am besten geeignet hat sich eine Umdrehunggeschwindigkeit der Schreibtrommel von ca. 60 cm pro Stunde erwiesen. Dann wird der Badeflüssigkeit des Muskels eine genau abgemessene Menge von wirksamer Substanz in Lösung zugesetzt. Die sofortige und gründliche Mischung erfolgt durch vorsichtiges Umrühren mit einem Glasstab und außerdem durch die Flüssigkeitsbewegung, die durch die zum Zwecke der Lüftung durchgeleiteten Luftblasen hervorgerufen wird. Je nach der Art und der Konzentration des zugesetzten Stoffes tritt nach kürzerer oder längerer Einwirkung eine Kontraktion der Muskelfasern ein, die sich graphisch in Form eines langsameren oder rascheren An-

stieges der Kurve registriert. Oft manifestiert sich die Muskelreizung außer diesem Tonusanstieg noch durch einzelne kleine, evtl. sogar rhythmische Einzelzuckungen. Darauf folgt die Entleerung der Badeflüssigkeit durch Absaugen und ein mehrmaliges Auswaschen des Muskels durch reine Ringerlösung. Dieses Ausspülen des Präparates dauert je nach der Art und der Konzentration der verwendeten erregenden Substanz verschieden lang und nimmt sehr viel Zeit in Anspruch, da kein neuer Versuch angestellt werden kann, bevor der Schreibhebel wieder zur Grundlinie zurückgekehrt ist. Durchschnittlich nimmt ein so durchgeführter Versuch ca. 30 Minuten Zeit in Anspruch.

In diesen Vorversuchen habe ich einerseits die Wirksamkeit des zugesetzten Stoffes geprüft und anderseits die minimalste Substanzmenge, d. h. ihre minimale Konzentration ermittelt, die während einer bestimmten Einwirkungsdauer (10 Minuten) eben noch eine deutliche erkennbare Kontraktion hervorzurufen vermag. Diese minimale Konzentration zu ermitteln, ist deshalb wichtig, weil sich daraus die Basis für das Mischungsverhältnis von Blut und erregend wirkender Substanz ergibt. Es hat sich nämlich gezeigt, daß das Muskelpräparat nach mehrfachen Reizungen mit denselben oder sogar mit kleineren Konzentrationen stärker reagiert als bei der ersten Reizung. In Berücksichtigung dieser zunehmenden Sensibilisierung des Muskels durch vielfache Reizversuche, wie ich diese Erscheinung bezeichnen möchte, muß man auf Grund der durch die Vorversuche gefundenen Minimalkonzentration das Mischungsverhältnis so berechnen, daß diese minimale Wirkungsmenge der herzustellenden Blutmischung noch in den Bereich der mit Pipetten leicht abmeßbaren Größenordnung zu liegen kommt. Die Zahlenwerte für die Mischung werde ich bei der Besprechung der Hauptversuche mit den betreffenden Substanzen erwähnen.

Für die Untersuchungen wurde durchgehend Kalbsblut aus dem hiesigen städtischen Schlachthofe verwendet. Versuche mit dem Blute von anderen Schlachttieren konnte ich deshalb nicht durchführen, weil diese Blutsorten wegen der Schlachtungen von maul- und klauenseuchekranken Tieren nicht regelmäßig erhältlich waren. Das Blut wurde frisch von der Ader weg in einem Glaszylinder aufgefangen und sofort für die Versuche verwendet. Daß das Blut jeweilen in frischem Zustande zur Untersuchung kam, er-

kannte ich jedesmal daran, daß das zentrifugierte Blut absolut keine Hämolyse zeigte. Zeigte sich eine solche, so wurde das Blut als unbrauchbar weggegossen. Die Untersuchung des Verteilungsproblems führte ich in Parallelversuchen am defibrinierten und am nicht defibrinierten Blute durch. Die Defibrinierung geschah wie üblich durch Schlagen des frischgewonnenen Blutes mit einem Glasstab. Die Gerinnungshemmung für die Versuche mit nicht defibriniertem Blute wurde durch Zusatz von Natrium fluorat. (1,5 g auf 500,0 g Blut = 3°/₀₀) erreicht. Wie die Vorversuche ergaben, hat Fluornatrium auf das Muskelpräparat keinen hemmenden oder erregenden Einfluß.

Die Zubereitung der Blutmischung geschieht folgendermaßen: Die wirksame Substanz wird in einem genau tarierten Erlenmeyerkölbchen so berechnet abgewogen, daß 1 ccm des herzustellenden Mischblutes die in den Vorversuchen ermittelte minimale Wirkungsmenge Stoff enthält. Dann wird ad 100 g Blut zugegossen und sorgfältig durch Schütteln gemischt. Von diesem Mischblut und vom Normalblut werden je 70 g zentrifugiert. Die übrigen 30 g Mischblut und eine gewisse Menge Normalblut werden je in einem Erlenmeyerkölbchen in den Kühlschrank gebracht. Zur Sedimentierung des Blutes stand mir eine elektrische Zentrifuge mit einer Tourenzahl von 3000 pro Minute zur Verfügung. Die durchschnittliche Dauer der Zentrifugierung bis zur völligen Sedimentierung der Blutkörperchen beträgt ca. $3-3^1/_2$ Stunden. Nach eingetretener vollständiger Trennung des Blutes in Blutkörperchen und Blutflüssigkeit wird das Plasma resp. das Serum abpipettiert und je in ein besonderes Erlenmeyerkölbchen gebracht. Auf diese Weise haben wir 4 verschiedene Vergleichsflüssigkeiten gewonnen:

Lösung I: Normalblut.
Lösung II: Normalplasma resp. Serum.
Lösung III: Unzentrifugiertes Mischblut.
Lösung IV: Mischplasma resp. Serum.

Jetzt sind die Vorarbeiten so weit gediehen, daß man zu den Hauptversuchen übergehen kann. Zuerst prüfe ich immer mit einer wässerigen Lösung der wirksamen Substanz die Erregbarkeit und die Größe der Kontraktion des Präparates. Dabei zeigte sich auch mir die schon von Fühner erwähnte Tatsache, daß das Kopfstück des Egels die größte Kontraktionsgröße von allen Teil-

stücken zeigt, was auch leicht begreiflich ist, wenn man die Bewegungen und die Art der Lokomotion des lebenden Egels aufmerksam verfolgt. Nun prüfe ich mit der gleichen Versuchsanordnung wie bei den Vorversuchen der Reihe nach gleiche Mengen Normalblut, Normalplasma resp. Serum, Mischblut und Mischplasma resp. Mischserum nach jeweiliger gründlicher Auswaschung auf ihre Wirkung durch und vergleiche die graphisch registrierten Effekte miteinander. Zu einer kleineren Zusatzmenge absteigend werden wieder alle 4 Vergleichflüssigkeiten auf ihre Wirksamkeit auf das biologische Reagens durchuntersucht. Im Interesse der Zeitersparnis kann man in den folgenden Versuchen die Prüfung von Normalblut und Normalplasma resp. Serum unterlassen, da es sich schon in der ersten Versuchsreihe zeigt, daß dem Normalblut und dem Normalplasma resp. Serum in frischem Zustande keine erregende Wirkung auf das Muskelpräparat zukommt. Wie ich eingangs dargetan habe, kann man nun durch Vergleich der Wirkungen von gleichen Mengen von Mischblut und Mischplasma resp. Serum auf die Verteilung der wirksamen Substanz auf die einzelnen Komponenten des Blutes schließen. Bei der praktischen Ausführung dieser Methodik der quantitativen Beurteilung zeigt sich nun aber eine sehr störende Schwierigkeit. Die früher schon erwähnte Sensibilisierung des Muskels durch wiederholte Reizungen verunmöglicht den direkten quantitativen Vergleich, indem oft Reizversuche mit kleineren Konzentrationen größere Kontraktionen geben als solche mit größeren Verdünnungen. Um diese Unsicherheit bei der quantitativen Beurteilung der Effekte bei äquidosalen Reizungen zu beseitigen, war ich gezwungen, die Untersuchungsmethodik in eine Grenzwertmethode umzuwandeln. Mit dieser vermag ich die störenden Folgen der Sensibilisierung des Muskels auszuschalten, indem sich diese Steigerung der Erregbarkeit eben doch nicht ad infinitum treiben läßt. Bei der Ausführung dieser Grenzwertmethode, die mir sichere und leicht quantitativ vergleichbare Resultate gibt, braucht die Versuchsanordnung nicht geändert zu werden. Der Unterschied liegt einfach darin, daß 2—3 Vergleichsversuche mit den beiden Untersuchungsflüssigkeiten für die Bewertung nicht genügen, sondern daß man beide Flüssigkeiten mit absteigenden Dosen so lange prüft, bis die Wirkung der einen oder beider gleich Null wird. Aus dem gleichzeitigen oder aus der Reihenfolge des Ausbleibens der Kontrak-

tion kann man analoge quantitative Schlüsse auf die Verteilung ziehen wie aus dem direkten Vergleich der Effekte bei äquidosalen Reizungen. A priori können wir folgende Resultate erwarten.

Nehmen wir an, daß bei der Prüfung mit absteigenden Dosen von Zusatzflüssigkeit zur Badeflüssigkeit gewisse Mengen von Mischblut und Mischplasma resp. Serum noch eine deutliche +-Reaktion geben, daß aber die nächstfolgenden niedrigeren Mengen keine Wirkung mehr haben. In diesem Falle müssen wir schließen, daß beide Vergleichsflüssigkeiten den wirksamen Stoff in gleicher Konzentration enthalten, d. h. daß die Substanz sich gleichmäßig auf Blutflüssigkeit und auf Blutkörperchen verteilt hat. Die Blutkörperchen müssen also für den zugesetzten Stoff permeabel sein.

Würden wir dagegen finden, daß Blutplasma resp. Blutserum in keiner Dosierung wirksam ist, daß das Mischblut dagegen in verschiedenen Mengen gut erregend sich erweist, so würde uns dies beweisen, daß die corpusculären Bestandteile des Blutes alle wirksame Substanz an sich gerissen und in sich aufgenommen haben, so daß das Plasma resp. Serum frei davon bleibt.

Es ist aber auch denkbar, daß das Mischblut bei der Prüfung mit absteigenden Mengen bis zu einer gewissen Konzentration wirksam ist, mit der nächstfolgenden kleineren dagegen keinen Effekt mehr gibt. Das Blutplasma dagegen erweist sich noch in Mengen wirksam, in denen Mischblut nicht mehr wirksam ist. Hier müssen wir annehmen, daß das Blutplasma den wirksamen Stoff in größerer Konzentration als das Mischblut enthält, weil die Blutkörperchen für diesen nur teilweise oder gar nicht permeabel sind. Der zugesetzte Stoff hat sich also speziell oder ganz ausschließlich auf die Blutflüssigkeit verteilt.

Nach dieser theoretischen Erörterung der Deutung der Untersuchungsresultate kann ich zur Besprechung der in den Vor- und Hauptversuchen gewonnenen Ergebnisse übergehen.

1. Versuche mit Pilocarpinum hydrochloricum am nervenhaltigen Egelpräparat und am Froschmagenring. Pilocarpin erwies sich an den obigen biologischen Reagenzien in Konzentrationen von 1 : 2000 minimal, in höheren stärker wirksam, wie dies schon von Fühner gefunden wurde. In der Verdünnung erzeugt Pilocarpin in den einen Versuchen leichte Einzelzuckungen, in denjenigen mit vorhandener Automatie

Verstärkung dieser. Wegen der schon besprochenen Unsicherheit in der quantitativen Beurteilung der Effekte bei Untersuchungen am nervenhaltigen Präparate gab ich die Versuche mit Pilocarpin auf. Am nervenfreien Egelmuskel ist dieser Stoff aus begreiflichen Gründen unwirksam.

2. Versuche mit Pituglandol und Thyreoglandol am nervenhaltigen Egelpräparate brach ich aus gleichen Gründen wie diejenigen mit Pilocarpin ab. Am nervenfreien Muskel erwiesen sich beide in den Vorversuchen als unwirksam.

3. Versuche mit Pituitrin am nervenfreien Egelpräparat. Am nervenfreien Egelmuskel war Pituitrin (Marke Parke, Davis und Cie., London, in Ampullen) erst in sehr großen Mengen erregend wirksam. Eine deutliche Kontraktion war erst bei Zusatz von 0,25 ccm Pituitrin zu 100 ccm Badeflüssigkeit zu erhalten, was einer Konzentration von 1 : 400 entspricht. Aber auch in diesen und in höheren Konzentrationen waren die Wirkungen auf das nervenfreie Egelpräparat so ungleichmäßige und unregelmäßige, daß ich auf die Verwendung von Pituitrin für meine Untersuchungen verzichten mußte. Es ist dies sehr bedauerlich, weil damit die Versuche mit einem Stoffe vom Typus der Hormone für mein Problem der Verteilung verlorengingen.

4. Versuche mit Phenyläthylamin am nervenfreien Egelpräparat. Phenyläthylamin als Vertreter eines proteogenen Amines erwies sich in den Vorversuchen als eine sehr stark erregende Substanz. Die minimale Wirkung erhielt ich bei Zusatz von 1 ccm $^1/_{10}$ Normallösung auf 100 ccm Badeflüssigkeit. Mit dem Blute zusammen gebracht gab dieser Stoff aber Hämolyse und war deshalb für meine Arbeit ebenfalls nicht zu gebrauchen.

5. Versuche mit Muscarin am nervenhaltigen Egelpräparat. In den Vorversuchen erwies sich das Dialysate de Muscarin Golaz in Zusatzmengen von 0,5 ccm $1^0/_{00}$ Lösung als gut wirksam. Zur Zeit meiner Untersuchung war es jedoch in den für die Hauptversuche nötigen Quantitäten nicht erhältlich.

6. Versuche mit Nicotinum hydrochloricum am nervenfreien Egelpräparat. Nicotin übt auf das nervenfreie Egelpräparat, wie schon Fühner gefunden hat, eine äußerst stark erregende Wirkung aus und hat noch den Vorteil, daß es mit Blut zusammengebracht, keine Hämolyse desselben hervorruft. Nicotin vermag noch in Konzentrationen von 1 : 2 Millionen eine mini-

male Kontraktion auszulösen. Im Laufe der Hauptversuche zeigte es sich sehr bald, daß ich im Nicotin einen für meine Untersuchung sehr geeigneten Stoff gefunden hatte. Der einzige Nachteil des Nicotins liegt in seiner langsamen und schweren Auswaschbarkeit aus dem Muskelpräparat. Zuerst muß man 3—4 mal in Abständen von 5 zu 5 Minuten mit Ringerlösung auswaschen, dann einmal mit einer 3 proz. alkoholischen Ringerlösung und zuletzt noch einmal mit einer reinen Ringerlösung nachspülen. Diese zeitraubende Behandlung des Muskelpräparates zu seiner Wiederherstellung wird aber reichlich aufgewogen durch die schönen und leicht beurteilbaren Kontraktionen, die man durch Reizungen mit Nicotin erreicht. Graphisch registriert sich die Erregung des Egelmuskels in Form eines allmählicheren oder rascheren Anstieges der Kurve, d. h. in einer Zunahme des Muskelstroms. Das Mischungsverhältnis von Nicotin und Blut wurde so berechnet, daß 1 ccm Mischblut 0,00005 g Nicotin enthält. Setzt man 1 ccm von dieser Blutmischung zu 100 ccm Badeflüssigkeit zu, so enthält letztere den wirksamen Stoff in einer Konzentration von 1 : 2 Millionen. Die Untersuchungen mit Nicotin habe ich in Parallelversuchen am defibrinierten und am nicht defibrinierten Blute durchgeführt. Die in diesen Hauptversuchen nach der Grenzwertmethode gewonnenen Resultate sind in den folgenden Tabellen (I—IV) zusammengestellt.

Tabelle I.

Frisches defibriniertes Kalbsblut mit Zusatz von Nicotinum hydrochloricum 0,5 g einer 1 proz. Lösung auf 100 g Blut.

Zusatzmenge ccm	absolute Nicotinmenge g	Konzentration	Normalblut	Normalserum	Nicotinblut		Nicotinserum
1,0	0,00005	1: 2 000 000	0 (17) XXXI	0 (21)	+ (19)	←—	+ (34)
0,75	0,0000375	1: 2 666 666	0 (25)	0 (40) XXXII	+ (23)	—→	+ (37)
0,5	0,000025	1: 4 000 000	0 (30)	0 (45)	+ (27)	←→	+ (42)
0,4	0,00002	1: 5 000 000	—	—	+ (46)	←→	+ (49)
0,3	0,000015	1: 6 666 666	—	—	+ (52)	←—	+ (55)
0,2	0,00001	1:10 000 000	—	—	0 (60)		0 (57)

+ = die in der gleichen Querkolonne angeführte Menge Flüssigkeit (Nicotinblut oder Nicotinserum) gab beim Zusatz zu 100 ccm Badeflüssigkeit im Versuch Kontraktion des Egelmuskels.

0 = fehlende Kontraktion.

Die arabische Ziffer bedeutet die Nummer der graphisch fixierten Kurve der Kontraktion.

Die römische Ziffer bezeichnet die Nummer des Blattes mit den entsprechenden Kurven.

Die Zahlen in der ersten senkrechten Kolonne geben die Menge des im betreffenden Versuche der Badeflüssigkeit (konstant = 100 ccm) zugesetzten Vergleichsflüssigkeit (Normalblut, Normlaserum, Nicotinblut, Nicotinserum) in Kubikzentimetern an.

Tabelle II.

Frisches defibriniertes Kalbsblut mit Zusatz von Nicotinum hydrochloricum 0,5 g einer 1 proz. Lösung auf 100 g Blut. (Wiederholung des 1. Versuches.)

Zusatzmenge ccm	absolute Nicotinmenge g	Konzentration	Normalblut	Normalserum	Nicotinblut		Nicotinserum
2,0	0,0001	1 : 1 000 000	0 (67) XXXII	0 (72)	+ (64)	←—	+ (69)
1,0	0,00005	1 : 2 000 000	—	—	+ (73) XXXIII	←→	+ (76)
0,75	0,0000375	1 : 2 666 666	—	—	+ (79)	—→	+ (82)
0,5	0,000025	1 : 4 000 000	—	—	+ (85)	←—	+ (88)
0,3	0,000015	1 : 6 666 666	—	—	0 (91)		0 (94)

Die Richtung der in der Tabelle beigefügten Pfeile zeigt diejenige Flüssigkeit (Nicotinblut oder Nicotinserum) an, die in dem Versuche mit äquidosalen Mengen die stärkere Kontraktion auslöst, von den beiden Vergleichsflüssigkeiten. Beidseits gerichtete Pfeile bedeuten gleich starken Tonusanstieg bei Reizung mit gleichen Dosen von beiden Flüssigkeiten. Wir sehen aus dem Verhalten der Pfeilstellungen, wie unsicher die quantitative Beurteilung der Effekte durch direkten Vergleich ausfällt und müssen erkennen, daß erst die Grenzwertmethode uns sichere quantitative Schlüsse auf die Verteilung gestattet.

Tabelle III.

Undefibriniertes Kalbsblut mit Zusatz von Nicotinum hydrochloricum 0,5 ccm einer 1 proz. Lösung auf 100 g Blut. (Gerinnungshemmung erzielt durch Zusatz von 1,5 g Fluornatrium auf 100 g Blut.)

Zusatzmenge ccm	Absolute Nicotinmenge g	Konzentration	Normalblut	Normalplasma	Nicotinblut		Nicotinplasma
2,0	0,0001	1 : 1 000 000	0 (38) XXXVII	0 (40)	+ (42)	←——→	+ (44)
1,0	0,00005	1 : 2 000 000	0 (50) XXXVIII	0 (52)	+ (46)	——→	+ (48)
0,5	0,000025	1 : 4 000 000	—	—	+ (54)	——→	+ (56)
0,4	0,00002	1 : 5 000 000	—	—	+ (60)	←——	+ (58)
0,3	0,000015	1 : 6 666 666	—	—	+ (62)	——→	+ (64)
0,2	0,00001	1 : 10 000 000	—	—	minimal + (66)	→	minimal + (68)
0,1	0,000005	1 : 20 000 000	—	—	0 (70)		0 (72)

Tabelle IV.

Undefibriniertes Kalbsblut mit Zusatz von Nikotinum hydrochloricum 0,5 ccm einer 1 proz. Lösung auf 100 g Blut. (Wiederholung des Versuches in Tabelle III.)

Zusatzmenge ccm	absolute Nicotinmenge g	Konzentration	Normalblut	Normalplasma	Nicotinblut	Nicotinplasma
2,0	0,0001	1: 1000000	0 (110) XXXIX	0 (112)	+(122) ←———	+(120)
1,0	0,00005	1: 2000000	—	—	+(124) IIII ←→	+(126)
0,5	0,000025	1: 4000000	—	—	+(128) ←———	+(130)
0,4	0,00002	1: 5000000	—	—	+(132) ←——→	+(134)
0,3	0,000015	1: 6666666	—	—	+(138) ———→	+(140)
0,2	0,00001	1: 10000000	—	—	minim. +(142) min. ←→	+(144)
0,1	0,000005	1: 20000000	—	—	0 (146)	0 (148)

Sowohl beim defibrinierten Blute wie bei dem mit Fluornatrium versetzten Blute sind Nicotinblut und Nicotinplasma resp. Serum bis zu einer gewissen Zusatzmenge wirksam. Bei Versuchen mit den nächstniedrigeren zugesetzten Dosen werden beide Vergleichsflüssigkeiten unwirksam. Dieser Untersuchungsbefund spricht dafür, daß gleiche Volumina Nicotinblut und Nicotinserum resp. -plasma, trotzdem sie beim direkten Vergleiche oft verschieden stark wirken, gleiche Mengen wirksamer Substanz enthalten. In der konstanten Menge Badeflüssigkeit ist Nicotin in gleicher Konzentration enthalten, ob wir gleiche Mengen Nicotinblut oder gleiche Volumina Nicotinserum resp. -plasma zusetzen. Dieses Verhalten auf die Fragestellung des Verteilungsproblems übersetzt, bedeutet, daß zugesetztes Nicotin sich gleichmäßig auf Blutflüssigkeit und auf Blutkörperchen verteilt. Die Blutkörperchen müssen also für Nicotinum hydrochloricum permeabel sein. An diesem Verhalten ändert die Defibrinierung des Blutes nichts.

7. Versuche mit Cholinbromhydrat am nervenfreien Egelpräparat. Da neuestens Cholin zu den Hormonen gerechnet wird, dürfen wir wohl sein Derivat, das Cholinbromhydrat, als ein den Hormonen sehr ähnliches oder wenigstens sehr nahestehendes Präparat auffassen. Die Untersuchungen mit dieser Substanz sind deshalb wichtig, weil sie uns vielleicht durch Analogieschlüsse etwas über die Verteilung der natürlichen Funktionsmittel des Körpers im Blute auszusagen vermögen. In den Vorversuchen hat sich das Cholinbromhydrat am nervenfreien Egelpräparat als gut wirksam erwiesen, wenn auch bedeutend schwächer als das von Fühner

in seiner oben zitierten Arbeit verwendete Acetylcholin. Die Vorversuche ergaben als minimal wirksame Konzentration die Verdünnung von 1 : 12,500. Die Cholinbromhydratblutmischung stellte ich daher in dem Mengenverhältnis her, daß 1 ccm Cholinblut 0,01 g dieses Stoffes enthielt, was bei einer Verdünnung durch 100 ccm Badeflüssigkeit einer Konzentration von 1 : 10000 entspricht. Die Hauptversuche mit dieser Blutmischung ergaben mir folgende tabellarisch zusammengestellte Resultate (Tabelle V—VIII).

Tabelle V.

Defibriniertes Kalbsblut mit Zusatz von Cholinbromhydrat, 1,0 g auf 100 g Blut.

Zusatzmenge ccm	Cholinmenge g	Konzentration	Normalblut	Normalserum	Cholinblut	Cholinserum
1,5	0,015	1: 6666	0 (30) XXXIV	0 (41)	+ (37) ←——→	+ (39)
1,2	0,012	1: 8333	0 (32)	0 (45)	+ (43) ——→	+ (47)
1,0	0,01	1: 10000	—	—	+ (49) XXXV ←→	+ (51)
0,8	0,008	1: 12500	—	—	+ (53) ←——	+ (55)
0,5	0,005	1: 20000	—	—	+ (57) ←——→	+ (59)
0,4	0,004	1: 25000	—	—	+ (63) ←——→	+ (61)
0,3	0,003	1: 33333	—	—	minim. + (65) minim. ←→	+ (67)
0,2	0,002	1: 50000	—	—	0 (69)	0 (71)

Tabelle VI.

Defibriniertes Kalbsblut mit Zusatz von Cholinbromhydrat, 1,0 g auf 100 g Blut. (Wiederholung des Versuches in Tabelle V.)

Zusatzmenge ccm	Cholinmenge g	Konzentration	Normalblut	Normalserum	Cholinblut	Cholinserum
1,0	0,01	1: 10000	0 (74) XXXVI	0 (76)	+ (78) ——→	+ (80)
0,5	0,005	1: 20000	—	—	+ (82) ←——→	+ (84)
0,4	0,004	1: 25000	—	—	+ (87) ——→	+ (89)
0,3	0,003	1: 33333	—	—	minim. + (93) minim. ←→	+ (91)
0,2	0,002	1: 50000	—	—	0 (95)	0 (97)

Der positive Ausfall eines Reizversuches stellt sich graphisch in Form einer mehr oder weniger rasch ansteigenden Kurve dar und wird in den Tabellen durch ein +-Zeichen markiert. Quantitativ lassen sich diese durch Tonusanstieg des Präparates bei Reizung bedingten Kurven leicht beurteilen, und zwar finden wir beim Vergleich analoge Resultate wie bei den Versuchen mit Nicotin. Normalblut und Normalplasma resp. -serum sind immer

Tabelle VII. Undefibriniertes Kalbsblut mit Cholinzusatz 1,0 g/100 g (Kopfstück). (Gerinnungshemmung erzielt durch Zusatz von Natr. fluor. 1,5 auf 500,0 g Blut.)

Zusatzmenge ccm	Cholinmenge g	Konzentration	Normalblut	Normalplasma	Cholinblut	Cholinplasma
1,5	0,015	1: 6666	0 (2) XXXVII	0 (4)	+ (6) ←——→	+ (10)
1,01	0,01	1: 10000	0 (8)	0 (12)	+ (14) ——→	+ (16)
0,5	0,005	1: 20000	—	—	+ (18) ——→	+ (20)
0,3	0,003	1: 33333	—	—	+ (22) ——→	+ (24)
0,2	0,002	1: 50000	—	—	minimal + (26) minimal →	+ (28)
			—	—	minimal + (30) minimal →	+ (32)
			—	—	(XXXVIII)	
0,1	0,001	1:100000	—	—	0 (34)	0 (36)

Tabelle VIII. Undefibriniertes Kalbsblut mit Cholinzusatz 1,0 g/100 g. (Wiederholung des Versuches in Tabelle VII.)

Zusatzmenge ccm	Cholinmenge g	Konzentration	Normalblut	Normalplasma	Cholinblut	Cholinplasma
1,0	0,01	1:10000	0 (74) XXXIX	0 (76)	+ (78) ——→	+ (80)
0,7	0,007	1:14285	—	—	+ (84) ——→	+ (86)
0,5	0,005	1:20000	—	—	+ (88) ——→	+ (90)
0,4	0,004	1:25000	—	—	minim. + (94) minim. ←→	+ (92)
0,35	0,0035	1:28571	—	—	minim. + (102) minim. ←→	+ (100)
0,3	0,003	1:33333	—	—	0 (106)	0 (104)

unwirksam. Cholinblut und Cholinplasma resp. -serum geben bis zu einer gewissen Zusatzmenge deutliche Wirkung, bei Verwendung der nächstfolgenden geringeren Zusatzmenge werden beide Vergleichsflüssigkeiten gleichzeitig unwirksam. Dieses Verhalten beweist uns sicher die gleichmäßige Verteilung des zugesetzten Cholinbromhydrates auf beiden Komponenten des Blutes. Die Blutkörperchen müssen also für diesen Stoff permeabel sein. Wie bei den Versuchen mit Nicotin hat die Ausfällung des Fibrins auf die Verteilung keinen Einfluß. Die auffallenden Unterschiede in der Größe der wirksamen Grenzkonzentrationen sind die Folge der Verwendung verschiedener Teilstücke des Egels. Bei den Versuchen in Tabelle VII wurde ein Kopfstück verwendet, in den übrigen 3 Versuchen dienten die weniger empfindlichen Rumpfstücke als Reagenzien.

8. Versuche mit Bariumchlorid am nervenfreien Egelpräparat. In meinen bisherigen Versuchen habe ich das Nikotin als Typus eines Alkaloides, das Cholinbromhydrat als eine den Hormonen sehr nahestehende Substanz auf ihre Verteilung

im Blute geprüft. Durch die Verwendung des Bariumchlorides gewinne ich noch den Vertreter eines anorganischen Salzes von sehr stark erregender Wirkung auf die glatte Muskulatur für meine Untersuchung. Es fragt sich nun, ob die Verteilung dieses Salzes im Blute sich gleich verhält wie die des Alkaloides Nicotin und die des den Hormonen verwandten Cholinbromhydrates.

In den Vorversuchen erwies sich Bariumchlorid in einer Konzentration von 1 : 40000 minimal wirksam. Auf der Basis dieser Verdünnung berechnete ich das Mischungsverhältnis von Blut und Bariumchlorid so, daß 1 ccm Mischblut 0,00025 g Bariumchlorid enthält, welche Menge bei Zusatz zu 100 ccm Badeflüssigkeit obige Konzentration ergibt. Bariumchlorid löst sich im Blute sehr leicht und erzeugt keine Hämolyse. Wie beim Nicotin zeigt sich in den Hauptversuchen mit $BaCl_2$ eine sehr weitgehende Sensibilisierung des Muskelpräparates gegen den wirksamen Stoff durch häufige Reizversuche, so daß sich in den Hauptversuchen oft sogar Konzentrationen von 1 : 200000—400000 noch erregend wirksam erweisen. Die Wirkung des Bariumchlorides auf den glatten Muskel weicht graphisch von der des Nicotins und des Cholinbromhydrates ab, indem Bariumchlorid neben dem allmählichen Tonusanstieg noch kleine rhythmische Einzelzuckungen auszulösen vermag. Höhere Konzentrationen vermögen sogar maximale Kontraktion des Präparates hervorzurufen. Bei der Beurteilung des Effektes habe ich alle 3 Formen von Erregungsäußerung berücksichtigt. In den nächstfolgenden tabellarischen Zusammenstellungen der Versuchsergebnisse bedeutet das erste + - Zeichen das Vorhandensein einer maximalen Kontraktion des Muskels, das zweite + - Zeichen die rhythmischen kleinen Einzelzuckungen, das dritte + - Zeichen das Vorhandensein eines Tonusanstieges.

Tabelle IX: Defibriniertes Kalbsblut mit Zusatz von Bariumchlorid 0,25 g $BaCl_2$ auf 100 g Blut.

Zusatzmenge ccm	Normalblut	Normalserum	$BaCl_2$-Blut	Konzentration im Blut		$BaCl_2$-Serum
1,0	0 (1) XLI	0 (3)	+++ (7)	1 : 40000	←—	+++ (9)
0,7	—	—	0++ (12)	1 : 57141	←—	0++ (14)
0,5	—	—	0++ (16)	1 : 80000	—→	0++ (18)
0,3	—	—	0+0 (20)	1 : 133000	—→	0++ (22)
0,2	—	—	000 (26a)	1 : 200000	—→	0++ (26)
0,15	—	—	—		—→	0++ (24)
0,1	—	—	000 (30)	1 : 400000	←→	000 (28)

Tabelle X.

Defibriniertes Kalbsblut mit Zusatz von Bariumchlorid 0,25 g $BaCl_2$ auf 100 g Blut.

(Wiederholung des Versuches in Tabelle IX.)

Zusatzmenge ccm	Normalblut	Normalserum	$BaCl_2$-Blut	Konzentration bei Blutzusatz	$BaCl_2$-Serum
1,0	000 (32) XLI	000 (34)	0++ (38)	1 : 40000 ⟶	0++ (40)
0,7	—	—	0++ (42) XLII	1 : 57141 ⟶	0++ (44)
0,5	—	—	+++ (46)	1 : 80000 ⟵	+++ (48)
0,3	—	—	+++ (50)	1 : 133333 ⟶	+++ (52)
0,25	—	—	000 (72)	1 : 160000 ⟷	0++ (70)
0,2	—	—	000 (58)	1 : 200000 ⟶	+++ (64)
0,15	—	—	—	—	0+0 (68)
0,1	—	—	000 (54)	1 : 400000 ⟷	000 (56)

Tabelle XI.

Defibriniertes Kalbsblut mit Zusatz von Bariumchlorid 0,25 g $BaCl_2$ auf 100 g Blut.

(Wiederholung des Versuches in Tabelle IX.)

Zusatzmenge ccm	Normalblut	Normalserum	$BaCl_2$-Blut	Konzentration bei Blutzusatz	$BaCl_2$-Serum
1,0	000 (3)	000 (1)	0+⊕ (5)	1 : 40000 ⟶	0+⊕ (7)
0,5	—	—	0+⊕ (9)	1 : 80000 ⟶	0+⊕ (11)
0,4	—	—	0+⊕ (13)	1 : 100000 ⟵	0+⊕ (21)
0,3	—	—	0+⊕ (17)	1 : 133000 ⟶	0+⊕ (19)
0,2	—	—	000 (29)	1 : 200000 ⟶	0+0 (27)
0,15	—	—	000 (33)	1 : 266666 ⟶	0+0 (31)
0,1	—	—	000 (23)	1 : 400000 ⟷	000 (25)

Tabelle XII.

Nicht defibriniertes Kalbsblut mit Bariumchloridzusatz (Kopfstück), 0,25 g auf 100 g. (Gerinnungshemmung durch Zusatz von Fluornatrium 1,5 g auf 500,0 Blut.)

Zusatzmenge ccm	Normalblut	Normalplasma	$BaCl_2$-Blut	Konzentration bei Blutzusatz	$BaCl_2$-Plasma
4,0	(000 43) XLIV	000 (45)	+++ (47)	1 : 10000 ⟶	+++ (49)
2,0	—	—	+++ (51)	1 : 20000 ⟶	+++ (53)
1,2	—	—	+++ (55)	1 : 33333 ⟵	+++ (57)
0,4	—	—	⊕++ (59)	1 : 100000 ⟶	+++ (61)
0,2	—	—	0+⊕ (63) XLVI	1 : 200000 ⟶	++⊕ (65)
0,1	—	—	0+⊕ (67)	1 : 400000 ⟶	+++ (69)
0,05	—	—	000 (71)	1 : 800000 ⟶	++0 (73)
0,025	—	—	000 (77)	1 : 1600000 ⟷	000 (79)

Tabelle XIII. Nicht defibriniertes Kalbsblut mit Bariumchloridzusatz (Kopfstück), 0,25 g auf 100 g. (Gerinnungshemmung durch Zusatz von Fluornatrium 1,5 g auf 500,0 Blut.) (Wiederholung des Versuches in Tabelle XII.)

Zusatzmenge ccm	Normalblut	Normalplasma	$BaCl_2$-Blut	Konzentration bei Blutzusatz	$BaCl_2$-Plasma
1,0	000 (1) XLIII	000 (3)	0++ (5)	1 : 40000 ←	0++ (7)
0,7	—	—	0++ (9)	1 : 57141 →	+++ (11)
0,5	—	—	+++ (13)	1 : 80000 →	+++ (17)
0,4	—	—	0++ (23)	1 : 100000 ←	+++ (21)
0,3	—	—	0++ (25)	1 : 133333 →	0++ (31)
0,2	—	—	000 (27)	1 : 200000	—
0,15	—	—	000 (37)	1 : 266666 →	0++ (33)
0,1	—	—	—	— ↔	000 (39)

Die Richtung der Pfeile zeigt diejenige Flüssigkeit an, die, in gleicher Menge zur Badeflüssigkeit zugesetzt, stärker wirkt als ihre Vergleichsflüssigkeit.

Die Betrachtung der Tabellen IX—XIII ergibt uns ein abweichendes Resultat von demjenigen, das wir bei den Versuchen mit Nicotinum hydrochloricum und mit Cholinbromhydrat gefunden haben. Schon der bloße direkte quantitative Vergleich der Wirkungen gleicher Mengen Mischblut und Mischserum resp. -plasma zeigt, daß in den meisten Fällen, wenn auch nicht durchgehend, das letztere stärker wirkt als das erstere. Bei der Prüfung mit der Grenzwertmethode tritt dieser Wirkungsunterschied unzweifelhaft zutage. Mischserum resp. -plasma ist noch in Mengen erregend wirksam, in denen das Mischblut keinen Effekt mehr gibt. Der Befund beweist, daß im Bariumchloridserum resp. -plasma die Konzentration von $BaCl_2$ größer ist als im Bariumchloridblut. Die wirksame Substanz muß sich also ungleich auf die Blutflüssigkeit und die corpusculären Elemente verteilt haben. Wenn wir bedenken, daß die Blutkörperchen 50% des Gesamtvolumens des Blutes ausmachen, was wir leicht vermittels der Hämokritmethode feststellen können, können wir aus der Größe der Grenzwerte der minimal wirksamen Mengen beider Vergleichsflüssigkeiten das genaue Verteilungsverhältnis leicht berechnen. Bei den Versuchen in Tabellen IX, X, XI, XII beträgt die minimal wirksame Zusatzmenge des Mischserums, resp. des -plasmas 0,15 ccm, diejenige des $BaCl_2$-blutes 0,3 ccm, in dem Versuche auf Tabelle XII (Kopfstück des Egels) 0,05 ccm Bariumchloridplasma und 0,1 ccm Bariumchlorid

blut. Das Mischblut ist also immer erst in doppelt so großer Menge minimal erregend wirksam als das Mischserum resp. -plasma. Das letztere enthält also das $BaCl_2$ in doppelt so großer Konzentration wie das erstere. Unter der Voraussetzung, daß die Blutkörperchen 50% des Gesamtvolumens des Blutes ausmachen, beweist uns dieses Untersuchungsergebnis, daß das dem Blute zugesetzte Bariumchlorid sich bloß auf die Blutflüssigkeit verteilt. Die Blutkörperchen verhalten sich in diesem Falle im Gegensatze zu Nicotin und Cholinbromhydrat für dieses Salz impermeabel. Auch in den Bariumchloridversuchen hat die Defibrinierung des Blutes keinen Einfluß auf die Verteilung im Blute.

Zusammenfassung.

1. Die vorliegende Arbeit hat eine einfache und brauchbare biologische Untersuchungsmethode für die Frage der Verteilung von Hormonen und pharmakologischen Stoffen im Blutplasma resp. Blutserum und in den Blutkörperchen ergeben.

2. Die Art der Verteilung von Bariumchlorid, Nicotinum hydrochloricum und von Cholinbromhydrat im Blute ist unabhängig davon, ob diese Stoffe dem durch Schlagen defibrinierten oder dem durch Zusatz von Fluornatrium vor Fibringerinnung geschützten Blutes zugesetzt werden.

3. Für Bariumchlorid als Vertreter eines anorganischen Salzes sind die Blutkörperchen impermeabel; das dem Blute zugesetzte Bariumchlorid verteilt sich nur auf das Blutplasma resp. Blutserum.

4. Im Gegensatz dazu verteilen sich Nicotinum hydrochloricum als Typus eines Alkaloides und Cholinbromhydrat als Repräsentant eines Hormones gleichmäßig auf die Blutflüssigkeit und auf die corpusculären Blutbestandteile. Die Blutkörperchen sind also für diese 2 Stoffe permeabel.

5. Das Verhalten des Cholinbromhydrates in bezug auf seine Verteilung im Blute läßt darauf schließen, daß die Hormone im Organismus auch in die Blutkörperchen eintreten können.

Literatur.

Führer, Die chemische Erregbarkeitssteigerung glatter Muskulatur. Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 82, 51. — Führer, Ein Vorlesungsversuch zur Demonstration der erregbarkeitssteigernden Wirkung des Physostigmins. — Hedin, Grundzüge der physikalischen Chemie in ihrer Beziehung zur Biologie. Wiesbaden 1915. — Höber, Physikalische Chemie der Zellen und Gewebe. Leipzig 1914, S. 349.

Über den bakteriellen Abbau des l-Leucins.

Von

Minoru Arai.

(Aus dem Sasaki-Laboratorium im Kyoundo-Hospital zu Tokio.)

(Eingegangen am 27. Juni 1921.)

Die exakte Erforschung des bakteriellen Abbaus von Eiweißkörpern ist dank neueren Ergebnissen wiederbelebt worden. Besonders erweckten physiologisch wirksame Abbauprodukte, namentlich die sogenannten proteinogenen Amine, ein regeres Interesse, so daß in neuerer Zeit einige Monographien hierüber erschienen sind[1]).

Nachdem man früher Bakteriengemische auf die Eiweißkörper hatte einwirken lassen und nach den verschiedenen Abbauprodukten mühevoll gesucht hatte, ging man später dazu über, einzelne reingezüchtete Bakterien und reine Aminosäuren in eiweißfreien Nährlösungen zu verwenden und so nach erwarteten Abbauprodukten konsequent zu fahnden. Dabei hat sich nun herausgestellt, daß nicht nur die Arten der Bakterien, sondern auch andere Bedingungen auf die Bildung verschiedentlicher Abbauprodukte einen großen Einfluß haben[2]). Durch solche Untersuchung könnte man auf das dunkle Gebiet des Chemismus der Darmflora ein Licht werfen und weiterhin zur Frage der intestinalen Autointoxikationen einen exakten Beitrag liefern[3]).

---

[1]) Vgl. Barger, Simpler Natural Bases. London 1914; Hirsch, Die Einwirkung von Mikroorganismen auf die Eiweißkörper. Berlin 1918; Guggenheim, Biogene Amine. Berlin 1920.

[2]) T. Sasaki, Journ. of biol. chem. **32**, 527. 1917; vgl. auch K. Hirai, diese Zeitschr. **114**, 71. 1921.

[3]) Vgl. T. Iwao, diese Zeitschr. **59**, 436. 1914; Acta schol. med. univers. Kioto **1**, 263. 1916. — C. Asayama, ebenda **1**, 115. 1916. — M. Kageyama, ebenda **1**, 215. 1916. — Derselbe, ebenda **1**, 229. 1916.

Über die bakterielle Zersetzung des Leucins hat Nawiasky[1]) einige Versuche mit Proteusbacillen ausgeführt. Er hat dabei Capronsäure, Valeriansäure und Buttersäure gewonnen. Es geht aus dieser Arbeit aber nicht hervor, ob er mit synthetischem Leucin oder mit einem durch Isoleucin gemischten Hydrolysenprodukt gearbeitet hat. Frühere Angaben über bakterielle Zersetzungsprodukte des Leucins beziehen sich auf Untersuchungen mit Bakteriengemischen. So hatten Bopp[2]) und Nencki[3]) aus Fäulnisgemischen von Fibrin bzw. Pankreas mit Leucin Valeriansäure isoliert und sie als ein Zersetzungsprodukt des Leucins angesprochen. Neuberg[4]) hat aus reinem synthetischen d-Isoleucin durch Fäulnis optisch aktive d-Valeriansäure und d-Capronsäure dargestellt. Außerdem wurde aus Eiweißfäulnisprodukten Isoamylamin isoliert, dessen Bildung aus Leucin in Anbetracht der chemischen Verwandtheit theoretisch angenommen wurde[5]). Dieses Amin kommt auch in der Natur als ein Pflanzenprodukt vor[6]) Eigentümlicherweise wurde das Amylamin noch nicht experimentell direkt aus Leucin mittelst eines Mikroorganismus gewonnen. Auf Veranlassung von Prof. Takaoki Sasaki habe ich nach der neueren Methode, die in unserem Laboratorium üblich ist, die bakteriellen Abbauprodukte des Leucins näher zu erforschen versucht.

Zuerst wurden die Versuche unter der Bedingung der α-Oxysäurenbildung, d. h. unter Verwendung eines Puffers und von Aluminiumphosphat angestellt. Solche Umwandlungen aliphatischer Aminosäuren waren bis jetzt noch nicht geglückt. Dabei war in Betracht zu ziehen, daß die dabei entstehenden Zersetzungsprodukte labil sein und einer weiteren Zersetzung anheimfallen konnten.

Eine dem Leucin entsprechende Oxysäure, nämlich Leucinsäure, ist bis jetzt weder als ein Spaltprodukt des Leucins bei der Bakterieneinwirkung, noch bei der Eiweißfäulnis aufgefunden

---

[1]) Nawiasky, Arch. f. Hyg. 66, 209. 1908.

[2]) Bopp, Liebigs Ann. d. Chem. 69, 16. 1849.

[3]) Nencki, Opera Omnia 1, 204. Braunschweig 1904.

[4]) Neuberg, diese Zeitschr. 37, 501. 1911.

[5]) Literatur siehe bei G. Barger, l. c., S. 13 und P. Hirsch, l. c., S. 34.

[6]) G. Barger und H. H. Dale, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 61, 113. 1909. — Ciamician und C. Ravenna, Atti R. Accad. dei Lincei, Roma 20 (5), 1, 614; Ref. Chem. Centralbl. 2, 293. 1911.

Die Entstehung von Isoamylalkohol aus Leucin hatte Ehrlich[1]) folgendermaßen zu erklären versucht; es sollte zuerst aus dem Leucin Ammoniak abgespalten werden und intermediär Leucinsäure auftreten. Diese sollte aber sofort bei ihrer Entstehung nach dem Schema

$$\begin{matrix} CH_3 \\ CH_3 \end{matrix}\!\!>CH \cdot CH_2CH(OH) \cdot COOH \rightarrow \begin{matrix} CH_3 \\ CH_3 \end{matrix}\!\!>CH \cdot CH_2 \cdot CHO$$
$$H \cdot COOH$$

in Valeraldehyd und Ameisensäure zerfallen und der Valeraldehyd dann in Amylalkohol und vielleicht zum Teil durch Oxydation in Valeriansäure übergeführt werden. Leucinsäure konnte er als Zwischenprodukt jedenfalls nicht isolieren. Der Weg bei der Gärung führt aber überhaupt nicht über die Oxysäure, sondern über die Ketosäure, die unter Carboxylaseeinwirkung Valeraldehyd und weiter das Fuselöl liefert [Neuberg und Mitarbeiter[2])].

Ich konnte jene Oxysäure aus Leucin durch die Einwirkung von Proteus- und Subtilisbacillen isolieren. Es stellte sich dabei auch interessanterweise ein optisch differenter Abbau heraus; es wird nämlich d-Leucinsäure bei der Einwirkung von Proteus und l-Leucinsäure bei der Einwirkung von Subtilis gebildet.

Auf chemischem Wege läßt sich l-Leucinsäure mittels salpetriger Säure aus l-Leucin darstellen[3]). Da Leucin in der Natur als l-Form auftritt, so ist auch Leucinsäure begreiflicherweise in l-Form leicht zugänglich. d-Leucinsäure läßt sich dagegen nur schwer gewinnen, da d-Leucin in der Natur nicht vorkommt und auf umständlichen Wegen hergestellt werden muß. d-Leucinsäure kann man auch durch Waldensche Umkehrung aus l-Leucinsäure erhalten[4]) [5]). Wenn man dagegen Bakterien zu Hilfe nimmt, so kann man d-Leucinsäure bequemer mittels der Proteusbacillen aus dem natürlich vorkommenden l-Leucin darstellen. In Anbetracht der einfachen Technik und der guten Ausbeute darf man wohl diese Methode auch zur Darstellung empfehlen.

---

[1]) Ber. 40, 1027. 1907.

[2]) Diese Zeitschr. 52, 494. 1913; 59, 188. 1914; 67, 32. 1914; 71, 122. 1915.

[3]) F. Röhmann, Ber. 30, 1981. 1897.

[4]) H. Scheibler und A. S. Wheeler, Ber. 44, 2684. 1911.

[5]) S. Kodama, Journ. Tokyo chem. soc. 40, 825. 1919.

Nach Sasakis Untersuchung werden verschiedene cyclische Aminosäuren durch die Einwirkung von Proteusbacillen decarboxyliert, und es entsteht dabei ein um ein Kohlenstoffatom ärmeres Amin, wenn durch Zusatz von Milchzucker eine Anhäufung von Wasserstoffionen in der Nährlösung begünstigt wird[1]). Ich arbeitete unter denselben Bedingungen und konnte dabei Isoamylamin isolieren.

Experimenteller Teil.

I. Die Entstehung von Leucinsäure aus l-Leucin.

A. Versuch mit Proteus vulgaris.

Die Nährlösung war (nach Sasaki) folgendermaßen zusammengesetzt:

Kaliumchlorid	1,0 g
Ammoniumchlorid	1,0 „
Magnesiumsulfat	0,1 „
Glycerin	25,0 ccm
Hendersonsche Phosphatmischung[2])	170 „
Mit Wasser auf 1000 ccm aufgefüllt.	

Das rohe l-Leucin (aus Eiweiß des Weizenmehls) befreite ich möglichst von Isoleucin als Kupfersalz durch die Extraktion mit heißem Methylalkohol.

In einem vorher trocken sterilisierten, kurzhalsigen Kolben von 1 Liter Inhalt trug ich 800 ccm Nährlösung mit 2,0 g l-Leucin und 0,5 g Aluminiumphosphat ein und versetzte nach der Sterilisation im Dampftopf mit 20 Agarkulturen von Proteus. 5 Kolben, d. i. 10,0 g l-Leucin wurden zunächst aufgearbeitet; die Verweildauer im Brutschrank (37°) war 22 Tage. Nach Feststellung der bakteriologischen Reinheit wurden sämtliche Flüssigkeiten unter vermindertem Druck abdestilliert. Der sirupöse Rückstand mit heißem Alkohol mehrmals erschöpfend extrahiert. Der Alkohol wurde von neuem unter vermindertem Druck abgetrieben. Die wässerige Lösung des letzten Rückstandes wurde nach Ansäuern mit verdünnter Schwefelsäure erschöpfend mit Äther extrahiert. Die ätherische Lösung, welche stark nach Isovaleriansäure roch, wurde abgedampft, der Rückstand in wenig Wasser gelöst, mit verdünnter Natronlauge neutralisiert und mit einer basischen

[1]) T. Sasaki, Journ. of biol. chem. 32, 527. 1917.

[2]) I. Otsuka, diese Zeitschr. 114, 84. 1921.

Kupferacetatlösung gefällt[1]). Nach Entfernung des Kupfers mittelst des Schwefelwasserstoffes wurde das klare Filtrat wiederum mit verdünnter Schwefelsäure stark angesäuert und von neuem mit Äther extrahiert. Nach Abdampfen des Äthers schieden sich federartig angeordnete schöne nadelförmige Krystalle aus. Sie wogen 3,95 g (ca. 40% der Theorie). Die rohe Substanz schmolz bei 66° (unkorr.). Nach der Umkrystallisation aus Benzol schmolz sie bei 74° (unkorr.). Die wässerige Lösung, welche in 10,0 ccm 0,4665 g aus Wasser umkrystallisierter Substanz enthielt, drehte bei 12,5° und im 1 dm-Rohr um 0,5° nach rechts. Mithin $[\alpha]_D^{12,5} = +10,72°$.

0,1818 g Substanz : 0,2682 g CO_2 und 0,1138 g H_2O.
$C_6H_{12}O_3$: Ber. C 54,51, H 9,16%.
Gef. 54,30, 9,45%.

Der Rückstand der sauren Extraktion wurde mit verdünnter Natronlauge vorsichtig bis zu fast neutraler Reaktion neutralisiert und dann unter Zusatz von gesättigter Natriumcarbonatlösung stark alkalisch gemacht. Die alkalische Lösung von neuem mit Äther extrahiert. Nach der Extraktion mit Äther wurde der Auszug mit trockenem Natriumsulfat getrocknet, dann auf ein kleines Quantum eingeengt und mit ätherischer Oxalsäurelösung gefällt. Der Niederschlag wog 0,15 g, schmolz bei 145—155° (unkorr.) in einem zugeschmolzenen Capillarrohr und war stickstoffhaltig Ich konnte ihn aber wegen der geringen Menge weiter nicht charakterisieren.

Der ganze Versuch wurde noch einmal mit 8,0 g l-Leucin wiederholt und zwar mit beinahe demselben Resultate.

B. Versuch mit Bac. subtilis.

Unter ganz denselben Versuchsbedingungen wie beim vorigen Versuche ließ ich die Kultur von Bac. subtilis auf 10,0 g l-Leucin 30 Tage lang einwirken. Durch dieselbe Art der Bearbeitung konnte ich 2,3 g rohe Leucinsäure in Krystallform gewinnen. Diese schmolz unscharf zwischen 76—78° (unkorr.). Nach mehrmaliger Umkrystallisation aus Wasser schmolz sie scharf bei 77° (unkorr.). 1,2418 g der reinen, im Vakuumexsiccator ge-

[1]) Vgl. T. Sasaki und I. Otzuka, Über den Abbau des l-Tryptophans durch Proteusbakterien. Diese Zeitschr. 121, 167. 1921.

trockneten Substanz drehte bei 12° und im 1 dm-Rohr um 1,25° nach links. Mithin $[\alpha]_D^{12} = -10,30°$.

0,1306 g Substanz: 0,2607 g CO_2 und 0,1082 g H_2O.

$C_6H_{12}O_3$: Ber. C 54,51, H 9,16%.

Gef. 54,44, 9,27%.

Beim zweiten Versuch wurde aus 10,0 g l-Leucin 1,05 g rohe l-Leucinsäure gewonnen. Der Aufenthalt im Brutschrank war dabei 23 Tage.

II. Die Isolierung von Isoamylamin aus l-Leucin durch Proteus.

Die dabei gebrauchte Nährlösung hatte folgende Zusammensetzung:

Natriumchlorid	5,0 g
Kaliumbiphosphat	2,0 „
Ammoniumcarbonat	1,0 „
Magnesiumsulfat	0,1 „
Glycerin	25,0 ccm
Milchzucker	1,0 g

Mit Wasser auf 1000 ccm gefüllt.

In einem 1 Liter fassenden Kolben trug ich 800 ccm Nährlösung mit 0,5 g frisch gefälltem, feuchtem Uranylphosphat und 2,0 g l-Leucin ein. Ich arbeitete auf einmal mit 5 Kolben resp. 10,0 g l-Leucin. Nach der Sterilisierung im Dampftopf versetzte ich jeden Kolben mit je 20 Agarkulturen von Proteus vulgaris und ließ 18 Tage im Brutschrank stehen. Nach Konstatierung unveränderter bakteriologischer Reinheit wurde der vereinigte Inhalt aller Kolben unter vermindertem Druck abdestilliert. Nach der erschöpfenden Extraktion des Rückstandes mit Aceton wurde Aceton abgedampft. Die wässerige Lösung des letzten sirupösen Rückstandes wurde sodann nach Ansäuerung im Kumagawa-Sutoschen Flüssigkeitsextraktor mit Äther ausgezogen. Der wässerige Extraktionsrückstand wurde mit verdünnter Natronlauge vorsichtig bis zur schwach sauren Reaktion neutralisiert, dann mit einer gesättigten Sodalösung stark alkalisch gemacht und weiter mit Äther extrahiert. Ich konnte dabei nur 0,2 g l-Leucin zurückgewinnen.

Aus dem sauren Extrakte konnte keine definierbare Substanz außer Bernsteinsäure (sehr reichlich: 4,8 g) isoliert werden.

Die ätherische Lösung der bei alkalischer Reaktion extrahierten Substanzen wurde mit wasserfreiem Natriumsulfat ge-

trocknet, stark eingeengt und hierauf mit einer gesättigten ätherischen Oxalsäurelösung gefällt. Isoamylamin wurde dabei als Oxalat niedergeschlagen. Es wog 0,6 g und schmolz bei 145 bis 155° (unkorr.). Das Oxalat wurde in verdünnter Salzsäure aufgelöst und mit Äther behandelt. Isoamylamin wurde sodann als Platindoppelsalz in goldgelben Blättchen niedergeschlagen. Sie verfärbten sich bei 210° und zersetzten bei ca. 247° (unkorr.). Zur Analyse wurde die Substanz aus verdünntem Alkohol umkrystallisiert.

Substanz 0,1023 g: 0,0342 g Pt.

Substanz 0,1090 g: 4,8 ccm N (19,5°, 748,6 mm).

$(C_5H_{13}N \cdot HCl)_2PtCl_4$: Ber. Pt 33,41. N 4,80%.

Gef. 33,43, 5,06%.

Die Wiederholung des Versuchs ergab dasselbe Resultat.

Über den Gehalt der roten Blutkörperchen an Traubenzucker und Chlor.

Von

M. Bönniger.

(Aus der Inneren Abteilung des städtischen Krankenhauses in Berlin-Pankow.)

(Eingegangen am 27. Juni 1921.)

Falta und Quittner[1]) haben in sehr zahlreichen Versuchen den Nachweis zu führen gesucht, daß Traubenzucker, Kochsalz und verschiedene andere Substanzen nicht in die normalen Blutkörper eindringen. Erst Schädigung derselben in vitro sollen die Permeabilität ändern. Diese Ergebnisse konnten bisher von keinem Autor bestätigt werden [Ege, Hagedorn, Andresen, E. J. Warburg[2])].

Was zunächst den Traubenzucker betrifft, müßte im normalen menschlichen Blut der Zuckergehalt des Plasmas, das Volumen der Blutkörperchen von 45% als normal angesehen, fast doppelt so hoch sein, wie im Gesamtblut. Ich[3]) habe im Jahre 1908 als erster auf die große Bedeutung der Frage der Verteilung des Zuckers auf Plasma und Blutkörperchen für die klinische Untersuchung hingewiesen und zum erstenmal die Forderung aufgestellt, daß man das Serum untersuchen müsse. Indessen hat sich herausgestellt, daß diese Differenzen des Zuckergehalts von Blutkörperchen und Serum nicht so erheblich sind, daß im allgemeinen die Untersuchung des Gesamtblutes zu falschen Ergebnissen führte. Viel tausendfache Untersuchungen haben gezeigt, daß der Gesamtblutzucker des Menschen recht konstant ist. Wären im strömenden Blut die Blutkörperchen zuckerfrei, so würde diese Konstanz nur möglich sein, wenn der Plasmazuckergehalt dem Plasmavolumen annähernd proportional wäre.

Ich habe in vielen hundert Serumuntersuchungen (spontan geronnenes und möglichst schnell zentrifugiertes Blut) beim

---

[1]) Diese Zeitschr. **100** u. **114**.

[2]) Diese Zeitschr. **107**.

[3]) Berl. klin. Wochenschr. 1908. Die Arbeit Hollingers ist eine Abwehr der meinigen.

normalen Menschen kaum höhere Werte gefunden, als sie für das Gesamtblut angegeben werden.

Endlich habe ich in zahlreichen vergleichenden Untersuchungen unter den verschiedensten Bedingungen: Hirudinplasma, Fluornatriumplasma, spontan abgeschiedenes oder auch durch Defibrinieren mittels Glasstab gewonnenes Serum nur ganz unerhebliche Differenzen des Zuckergehalts gefunden.

Ein paar Versuche bei diabetischem Blut führe ich an (Mikromethode Michaelis):

	Titrationswerte I	II	
Hirudin	2,2	1,75 ccm	$^1/_{100}$-Kaliumpermanganatlösung
„	2,1	1,87 „	„
Defibrin.	2,2	1,85 „	„
„	2,3	1,9 „	„
Spontan	2,1	1,80 „	„
„	2,2	1,85 „	„
		1,83 „	„

Was nun das Chlor betrifft, so wäre ja hier der Fehler nicht so erheblich, da auch nach meinen Untersuchungen der Chlorgehalt der Blutkörperchen nur gering ist. Er schwankt etwa zwischen 0,21 und 0,12[1]). Auch hier habe ich wiederholt vergleichende Untersuchungen an Hirudinplasma und verschieden gewonnenem Serum gemacht. Mein Mitarbeiter Meyer-Bisch hat solche veröffentlicht[2]). Es konnten nur unbedeutende und nicht konstante Unterschiede gefunden werden. Hätten Falta und Quittner recht, so müßte bei einem Blutkörperchen-Cl-Wert von 0,17% und einem Serum-Cl-Wert von 0,38, wie es nach meinen Untersuchungen dem Mittel entspricht, und einem Blutkörperchenvolumen von 50% der Cl-Wert des Plasmas 0,55 sein statt 0,38. Es müßte ferner auch hier eine Abhängigkeit des Serum-Cl-Wertes vom Volumen erkennbar sein[3]). Von alledem ist keine Rede und für die Lehre Faltas und Quittners findet sich nicht der geringste Anhalt.

[1]) Zeitschr. f. exp. Pathol. u. Therap. 1912 u. 1919. Entgegen den Angaben von Snapper (diese Zeitschr. **51**) und Siebeck (Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **85**) fand ich kein konstantes Verhältnis zwischen Blutkörperchen- und Serum-Cl.

[2]) Ebenda 1919.

[3]) cf. die Cl-Kurve (Abb. 4), l. c. 1919.

Zur Kenntnis der Gewöhnung. V.

Entwöhnungsversuche.

Von

Johannes Biberfeld.

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Breslau.)

(Eingegangen am 30. Juni 1921.)

Die Versuche, über die hier berichtet werden soll, sind bereits im Jahre 1915 begonnen worden; infolge der Ungunst der Zeit mußten sie, die schon ihrer Natur nach längere Zeit erforderten, oft unterbrochen werden. Und auch jetzt kann ich noch keine in jeder Richtung abschließenden Ergebnisse bringen, möchte aber doch mit der Veröffentlichung nicht länger warten, da ich einige positive, auch theoretisch interessante Resultate erhalten habe.

In der Literatur habe ich keine Angaben über Versuche gefunden, die auf eine experimentelle Unterbrechung experimentell erzeugter Gewöhnung abzielten; in gewissem Sinne gehört ja z. T. die gesamte Arzneibehandlung hierher, die man bei der medizinalen Bekämpfung der Morphinsucht angewendet hat, vor allem wohl haben die ersten Befürworter des Cocains als eines Entwöhnungsmittels von seiner scheinbar erregenden Wirkung einen antagonistischen Einfluß auf die Morphindepression erwartet. Wie falsch die theoretischen Voraussetzungen waren, die zu dieser Empfehlung führten, zeigt am besten der traurige Erfolg, den sie bei der Krankenbehandlung gehabt hat. Und noch weniger experimentell begründet war die Anwendung der Belladonna und ihrer Alkaloide als Antidot bei Morphinismus[1]). — Theoretisch vielleicht besser gestützt, wenn auch allzu schematisch, waren die Versuche, mit Hilfe eines von gewöhnten

---

[1]) Vgl. diese Beiträge II, Über die Spezifität der Morphingewöhnung. Diese Zeitschr. 77, 283.

Tieren gewonnenen Serums die Gewöhnung aufzuheben; zu sicheren Ergebnissen haben ja diese Bestrebungen nicht geführt.

In neuester Zeit, als meine Versuche größtenteils schon abgeschlossen waren, ist bezüglich der Frage der sog. Chiningewöhnung einiges hierher Gehörige veröffentlicht worden. Unter Chiningewöhnung versteht man bekanntlich die Erscheinung, daß das Chinin bei vielen Malariakranken nach längerer Zufuhr seine spezifische Wirkung auf die Malariaplasmodion einbüßt, und das wird darauf zurückgeführt, daß die Parasiten infolge der Entwicklung der aufeinanderfolgenden Generationen im chininbeladenen Medium eine gewisse Festigkeit gegen das Alkaloid erwerben. Bilfinger (s. b. Neuschlosz) hat nun schon 1911 festgestellt, daß es gelingt, durch Salvarsan die Chininfestigkeit eines Malariastammes zu unterbrechen. 1919 hat Neuschlosz[1]) versucht, ob auch mit Arsenik dasselbe Resultat zu erzielen ist: Er stellte die Giftigkeit von Na. arsenicos. für normale Paramäcien, die in Heujauche kultiviert waren, fest; in dieser Weise als unwirksam befundene As-Konzentrationen der Kulturflüssigkeit waren nun in seinen Versuchen imstande, die Chininfestigkeit zu brechen, d. h. in dünnen Chininlösungen gezüchtete Paramäcien wieder annähernd so empfindlich gegen Chinin zu machen wie normale. Er glaubt auch analytisch feststellen zu können, daß gewöhnte Paramäcien Chinin in höherem Masse zerstören als normale. Auffallend ist, daß Neuschlosz keine Angaben darüber macht, wie die Kombination von Arsenik und Chinin auf normale Paramäcien wirkt; wenn man hierbei, was ja nicht unwahrscheinlich ist, fände, daß auch hier eine für sich allein unwirksame As-Konzentration eine für sich ebenfalls unwirksame Chininlösung giftig macht, dann würde es sich natürlich in seinen Versuchen an gewöhnten Paramäcien um eine einfache Summierung der toxischen Wirkung, nicht um ein „Brechen" der Gewöhnung handeln.

Der Grundgedanke, von dem ich in allen meinen Versuchen ausging, war folgender. Die Morphinfestigkeit gewöhnter Tiere wird, nachdem die Hypothese der Mehrzerstörung jetzt anscheinend wenigstens von Pharmakologen endgültig aufgegeben ist, wohl allgemein als eine veränderte Reaktionsfähigkeit der für das Alkaloid empfindlichen Organe angesehen. Demgemäß war, wenn man die Gewöhnung unterbrechen wollte, ein Erfolg

[1]) Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 176, 223.

nur von Maßnahmen zu erwarten, die gerade eben die Reaktionsfähigkeit beeinflussen könnten. Und hier war von vornherein von der Zufuhr anderer Nervengifte kaum etwas zu erwarten, zumal dann durch die Kombinationswirkung die Deutung eines etwaigen Effekts wohl unmöglich gemacht worden wäre. Es mußte vielmehr versucht werden, den Organismus im ganzen und damit selbstverständlich auch die nervösen Zentren umzustimmen. Pharmakologisch kamen deshalb nur solche Substanzen in Frage, von denen man keine spezifischen, wohl aber gewisse Allgemeinwirkungen erwarten konnte.

Am geeignetsten hierfür ist sicherlich die Zufuhr indifferenter Säuren und Alkalien, deren Beeinflussung des Gesamtorganismus wir aus den bekannten Stoffwechselwirkungen kennen; als Beispiele hierfür seien folgende Versuche angeführt.

Junger Hund von 3000 g Gewicht wird vom 29. X. 1915 ab an steigende Mengen Morphin gewöhnt; wirksame Anfangsdosis 0,01. Am 6. I. 1916 Gewicht 4200 g; 5^h 22′ 15 Atemzüge in 30″, 5^h 38′ 15 Atemzüge in 30″, 0,12 Morph. mur. subcutan. 5^h 55′ 15 Atemzüge in 30″, 6^h ebenso. Dann wird mit den Dosen schneller gestiegen. 18. I. Gewicht 4300 g; 4^h 55′ 14 Atemzüge in 30″, 5^h 05′ 12 Atemzüge, 0,3 Morph. mur. subcutan; 5^h 27′ 11 Atemzüge, liegt ruhig, schläft aber nicht, 5^h 42′ läßt manchmal den Kopf sinken, 14 Atemzüge in 30″. 6^h 04′ 13 Atemzüge in 30″. 20. I. Gewicht 4200 g; 4^h 56′ 10 Atemzüge in 30″, 0,3 Morph. hydr. subcutan; 5^h 31′ 12 Atemzüge in 30″, 6^h 02′ 18 (!) Atemzüge in 30″. 21. I. 11^h bis 11^h 15′ 40 ccm $^n/_{10}$-H_2SO_4 in eine Halsvene, keine Wirkung der Infusion erkennbar; 12^h 15′ 16 Atemzügei in 60″ (2 mal gezählt), 0,1 Morph. subcutan, 12^h 15′ 15 Atemzüge, 1^h 45′ 13 Atemzüge. 22. I. 0,2 Morph.; keinerlei Wirkung zu sehen. Auch in den nächsten Tagen war mit 0,2 und 0,3 Morph. keine Wirkung zu erzielen.

Säure hatte sich demnach als unwirksam erwiesen; scheinbar besser war der Erfolg einer Alkaliinfusion in folgendem Versuche:

Junger Hund, 3400 g; vom 29. X. 1915 an Morphin, anfangs 0,02. 27. I. 1916 Gewicht 6000; 0,4 subcutan. 28. I. 6300 g; 4^h 15′ 15—17 Atemzüge in 30″ (mehrmals gezählt, 0,4 Morph. subcutan. 4^h 42′ 23 Atemzüge in 30″, 4^h 55′ Defäkation, 5^h 30′ 20 Atemzüge. 29. I. 9^h 30′ 40 ccm Injektion von $^n/_{10}$-NaOH in eine Halsvene; nach Injektion von 32 ccm wird die Atmung etwas unruhig, Injektion abgebrochen; nach dem Abbinden normales Verhalten. Gewicht 5700 g; 10^h 35′ 14 Atemzüge in 30″, 10^h 45′ 12 Atemzüge in 30″, 0,2 Morph. subcutan, 11^h 20′ 12 Atemzüge, 12^h 05′ 14 Atemzüge. 31. I. 4^h 15′ 0,4 subcutan; nach kurzer Zeit Defäkation, Erbrechen, leichter Schlaf. 5^h noch ebenso; beim Anrufen oder bei Geräuschen hebt er den Kopf, schläft aber bald wieder ein; 12 Atemzüge in 60″. Um $^1/_2$7 Uhr noch ungefähr derselbe Zustand.

Bei Wiederholung des Versuches an einem anderen Tiere bekam ich aber ein ganz negatives Resultat:

Hund, 9000 g; vom 10. VII. 1916 an steigende Dosen von Morphin; anfangs 0,04. 21. VIII. Gewicht 6300 g, 9h 7 Atemzüge in 30″, 0,32 Morphin subcutan, 10h 7 Atemzüge in 30″, etwas müde, knickt mit den Hinterbeinen ein. 22. VIII. 6300 g; 9h 30′ 7 Atemzüge in 30″; 10h bis 10h 30′ 35 ccm n/10-NaOH (Herzaktion wird unregelmäßig) in eine Halsvene; nach der Infusion etwas Zittern, sonst nichts, 7 Atemzüge in 30″. 10h 40′ 0,2 Morphin. 11h 10′ 6—7 Atemzüge in 30″, 12h ebenso. Keinerlei Symptome. 23. VIII. 6700 g, 8h 50′ 7 Atemzüge in 30″, 9h 45′ 6 Atemzüge in 30″ (2 mal gezählt), 0,3 Morph. subcutan. Keinerlei allgemeine Symptome, 10h 30′ 6 Atemzüge in 30″ (2 mal gezählt), Tier ungewöhnlich munter. 11h 30′ 7 Atemzüge in 30″.

Entgegen der Vermutung hatte also die durch Säure- bzw. Alkalizufuhr bewirkte Änderung der allgemeinen Zelltätigkeit nicht konstant ausgereicht, um die Reaktionsfähigkeit der nervösen Zentren zur Norm zurückzuführen. Es darf dies schließlich auch nicht befremden, da wir ja wissen, daß gerade diese Zentren ihren chemischen (und damit wohl auch physikalisch-chemischen) Aufbau auch andersartigen, selbst energischen Eingriffen gegenüber, z. B. bei andauerndem Hungern, im Gegensatze zu anderen Organen recht konstant erhalten. — Mitbeteiligt an der Einflußlosigkeit unserer Maßnahmen dürfte auch die schnelle Entfernung des körperfremden bzw. überschüssigen Salzes, das sich aus den infundierten Substanzen bildet, durch die Nieren sein; alle fremden Salze werden ja schon in Stunden so gut wie quantitativ aus dem Organismus entfernt.

Die Ergebnislosigkeit der bisher angeführten Versuche ließ es auch als nutzlos erscheinen, die Wirkung von Infusionen indifferenter Salze zu erproben.

Um weiterzukommen, mußte versucht werden, tiefer als es mit den Infusionen möglich ist, in das Getriebe des Organismus an einer bedeutsameren Stelle einzugreifen, d. h. es mußte versucht werden, besonders auf denjenigen Zellbestandteil einzuwirken, mit dem die Zellfunktion unmittelbar verknüpft ist, also auf das Protoplasma, und zwar war wiederum nicht daran zu denken, etwa das Protoplasma speziell der nervösen Zentren beeinflussen zu wollen, sondern durch Eingriffe in den Gesamtbestand des Organismus an lebendem Eiweiß war indirekt eine Umstimmung der nervösen Elemente zu erstreben.

Als erstes Mittel hierfür wurde ein mittelstarker **Aderlaß** gewählt; **alle 3 angestellten Versuche gaben ein positives Resultat:**

1. Junger Hund, Gewicht 3400 g; vom 29. X. 1915 an Morph., Anfangsdosis 0,02. 20. I. 1916 Gewicht 6000 g, 4^h 55′ 9—10 Atemzüge in 30″ (mehrmals gezählt), 0,4 subcutan; 5^h 30′ 11 Atemzüge in 30″, 6^h 12 Atemzüge in 30″. 21. I. 5600 g; 100 ccm Blut aus der Carotis entnommen; keine Morphininjektion. 22. I. Gewicht 5800 g, 0,2 Morphin subcutan; Erbrechen. Nach ca. 20′ deutliche Zeichen von Stupor, läßt den Kopf sinken; Atmung unregelmäßig. Ca. 1 Stunde post injectionem tiefer Schlaf; Atmung 11 in 30″. Die Narkose hält mehrere Stunden an; noch 8 Stunden nach der Injektion vermag das Tier sich nicht auf den Beinen zu halten. — Während also am Tage vor dem Aderlasse 0,4 Morphin gar keine Wirkung hatten, brachten am Tage nach diesem 0,2 eine langdauernde, tiefe Betäubung hervor.

2. Hund, Gewicht 9000 g; vom 10. VII. 1916 an Morphin (s. o.); 25. VIII. 6000 g; 0,4 subcutan, keine Wirkung. 26. VIII. 5800 g, ebenso. 27. VIII. keine Injektion. 28. VIII. 5700 g, 0,32 Morphin, keine Wirkung, nur etwas müde. 29. VIII. 5700 g; Aderlaß (ca. 100 ccm). 30. VIII. 5900 g; 9^h 8—9 Atemzüge in 30″. 9^h 05′ 0,32 Morph., 9^h 35′ vielleicht etwas müde, 7 Atemzüge in 30″, 10^h 10′ 7 Atemzüge in 30″; 11^h 10′ 4 Atemzüge in 30″, knickt beim Stehen ein. — 12^h 6 Atemzüge in 30″, die Müdigkeit ist anscheinend vorbei, knickt nicht mehr. — Also eine schwache zentrale, aber eine sehr deutliche Wirkung auf das Atmungszentrum, die vor dem Aderlaß auf diese Morphindosis nicht eintrat.

3. Hund, Gewicht 12 700 g; vom 11. VI. 1920 an Morphininjektionen; zu mehreren Versuchen benutzt (s. w. u.). 17. VIII. 10 700 g, 9^h 0,72 subcutan, keine deutliche Allgemeinwirkung. 18. VIII. 10 700 g; Aderlaß (150 ccm). 19. VIII. 11 100 g; Tier ganz munter und normal, 9^h 0,72; sehr bald keuchende Atmung, 9^h 25′ deutlicher Stupor, kämpft mit dem Schlaf; 9^h 35′ senkt den Kopf, schließt die Augen, 9^h 45′ leichter Schlaf. — Der Zustand bleibt bis gegen 11^h derselbe; auf ein stärkeres Geräusch steht dann der Hund auf. Die Müdigkeit und der Stupor sind noch nachmittags erkennbar. 20. VIII. 10 400 g; Tier noch müde, 9^h 0,72 subcutan, 9^h 20′ leichter Schlaf, 10^h steht, aber noch sehr müde. 21. VIII. 10 200 g, 9^h 0,72, starke Müdigkeit, kein Schlaf. 23. VIII. 9500 g; 9^h 15′ 0,72, keine Wirkung. — Die Atmung war bei diesem Tiere, ebenso wie bei mehreren anderen Hunden, auch vor den Injektionen so unregelmäßig, daß sie nicht als Maßstab für eine etwaige Morphinwirkung dienen konnte[1]).

Gegen die Verwertung dieser Versuche könnte man einwenden, das Neuauftreten der Reaktion auf Morphin sei auf die nach dem Blutverluste zu erwartende allgemeine Schwäche und

[1]) Vgl. auch bez. des Verhaltens der Atmung gewöhnter Hunde diese Beiträge II, diese Zeitschr. 77, 285 Anmerk.

verminderte Resistenzfähigkeit zu beziehen. Das ist sicher nicht stichhaltig; denn selbst kurz nach der ja nicht übergroßen Blutentziehung bot das Tier ein ganz normales Aussehen und Betragen und vollends am nächsten Tage war es vor der Morphininjektion in nichts von einem normalen Tiere zu unterscheiden. — Theoretisch möglich wäre die Annahme (vgl. diese Beiträge II, diese Zeitschr. 77, 284), daß die Gewöhnung auf dem Entstehen einer Art von „Antikörpern" beruhe, die im gewöhnten Tiere die Wirkung des Narkoticums aufheben, und daß der Aderlaß dann einfach durch Entfernung dieser Substanzen aus dem kreisenden Blute die Empfindlichkeit gegen Morphin wiederherstelle. Es ist aber bis jetzt bekanntlich nicht gelungen, auf anderem Wege irgendwelche Beweise für das Vorhandensein solcher Körper aufzufinden und es erscheint daher wahrscheinlicher die wiedergewonnene Reaktionsfähigkeit der nervösen Zentren auf eine durch den Blutverlust hervorgerufene Änderung des inneren Zellbetriebes zu beziehen. Durch den Blutverlust kommt es zweifellos zu einem umfangreichen Abströmen eiweißhaltiger Gewebsflüssigkeit in das Blut und dies dürfte dann als in gewissem Sinne „parenteral" zugeführtes Eiweiß angesehen werden, von dem wir ja bereits eine Reihe von allgemeinen Wirkungen in den letzten Jahren kennengelernt haben (Protoplasmaaktivierung Weichardts). — Warum nun diese so supponierte Umstimmung des Gesamtorganismus in der Richtung verläuft, daß sie die Empfindlichkeit für Morphin vergrößert, ist natürlich nicht zu sagen. Von vornherein hätte man vielleicht eher das Umgekehrte erwartet, daß nämlich der Organismus durch die Auffrischung resistenter gegen äußere Einwirkungen wird, wie wir es bei den therapeutischen Erfolgen der „Proteinkörpertherapie" bacillärer Erkrankungen sehen.

Die Protoplasmaaktivierung zu therapeutischen Zwecken geschieht wie bekannt meist in der Form intramuskulärer oder subcutaner Injektion von Eiweißlösungen; auf Grund der genannten Erwägungen habe ich versucht, ob sich auch auf diesem Wege die Gewöhnung unterbrechen lasse; wegen der Schwierigkeit der Beurteilung führe ich auch hier die Aufzeichnungen sämtlicher Versuche abgekürzt an.

1. Hund, Gewicht 12 700 g; vom 11. VI. 1920 an Morphin, gut wirksame Anfangsdosis 0,12. Am 19. VII. 11 000 g, 0,7 subcutan, nur Müdigkeit.

20. VII. 0,72; Müdigkeit. 21. VII. 10 100 g (frißt schlecht), 0,72; keine Wirkung. 22. VII. 10 500 g; 20 ccm abgekochte Ziegenmilch subcutan, keine Erscheinungen. 23. VII. 11 100 g, 0,72 subcutan 9^{h} 15′; 9^{h} 30′ Schlaf, aber leicht zu erwecken, hechelnde Atmung, 10^{h} leichter Schlaf, Atmung selten: 8 in 30″, 10^{h} 40′ Schlaf, Atmung 5—6 in 30″. 12^{h} 30′ ebenso. — Der Schlaf hält bis gegen 4^{h} an, dann nur noch Müdigkeit. 24. VII. 10 500 g, 8^{h} 50′ 0,72 subcutan. Müdigkeit, die deutlich etwas stärker ist als vor der Milchinjektion, zeitweise ganz leichter Schlaf. 26. VII. 11 000 g, 0,72 9^{h} 25′; 9^{h} 35′ kämpft mit dem Schlaf, 10^{h} leichter Schlaf. 27. VII. 11 400 g; 0,72 subcutan, nur Müdigkeit, kein Schlaf. — In den folgenden Tagen ebenfalls je 0,72 ohne Änderung. Am 10. VIII. 11 000 g; 9^{h} 30′ 20 ccm Kuhmilch (zur Vermeidung etwaiger anaphylaktischer Symptome) und 0,72 Morphin. Nur Müdigkeit. 11. VIII. 9^{h} 0,72 Morphin, keine Wirkung. — Ebensowenig Wirkung hatte am 16. VIII. eingespritztes Kaninchenserum, während der am 18. VIII. vorgenommene Aderlaß die Empfindlichkeit wiederherstellte (s. o.).

2. Hund, Gewicht 11 500 g; vom 2. VIII. 1920 an gewöhnt, Anfangsdosis 0,1 Morphin. 30. VIII. Gewicht 10 200 g, 0,4 Morphin, nur Müdigkeit; ebenso am 31. VIII. und 1. IX. Am 2. IX. Gewicht 9000 g; 9^{h} 20 ccm Ziegenmilch und 0,4 Morphin subcutan; nur Müdigkeit. 3. IX. 8800 g; 8^{h} 50′ 0,4 Morphin subcutan. 9^{h} 10′ starker Tremor, Müdigkeit, läßt den Kopf sinken, 9^{h} 30′ schließt, wenn ungestört, die Augen. 10^{h} 25′ leichter Schlaf. 11^{h} ebenso, aber schon durch ganz leise Geräusche erweckbar, dann sinkt der Kopf bald wieder und die Augen werden geschlossen. 4. IX. 9000 g; 9^{h} 0,4, 9^{h} 10′ kämpft mit dem Schlaf, schließt zeitweise die Augen, 9^{h} 25′ liegt auf der Seite, schläft. 10^{h} schläft ziemlich fest. 12^{h} ebenso. 5. IX. 8900 g; 0,4 Morphin, nicht weiter beobachtet. 6. IX. 8900 g; 9^{h} 0,4, 9^{h} 30′ starke Müdigkeit, kämpft mit dem Schlaf. 10^{h} schließt zeitweise die Augen. 10^{h} 30′ Betäubung schon schwächer. 11^{h} 30′ normal. 7. IX. 8900 g; 9^{h} 10′ 0,4 Morphin; nur Müdigkeit.

3. Hund, Gewicht 8000 g; 26. I. 1921 Anfang der Morphingewöhnung (0,12); vom 16. II. ab je 0,4, vom 26. II. ab auf diese Dosis nur Müdigkeit. Am 8. III. 30 ccm Ziegenmilch und 0,4 Morphin. 9. III. Gewicht 6100 g, 9^{h} 05′ 0,4 Morphin, 9^{h} 12′ legt sich nieder. 9^{h} 15′ Schlaf, ziemlich fest, reagiert auf Berührung; Dauer bis gegen 11^{h}, auch dann aber noch starke Benommenheit, zeitweise leichter Schlaf. Gegen 12^{h} annähernd normal. 10. III. 9^{h} 12′ 0,4, 9^{h} 20′ leichter Schlaf. Gegen 11^{h} normal. 11. III. Gewicht 6200 g; 9^{h} 14′ 0,4. 9^{h} 20′ Müdigkeit, Benommenheit. 10^{h} 30′ normal. 12. III. 5900 g; 9^{h} 20′ 0,4; nur Müdigkeit, kein Schlaf.

In allen 3 Versuchen war demnach eine deutliche Wirkung der parenteralen Behandlung mit Milch erkennbar; am Tage nach der Injektion brachte eine

vorher infolge der Gewöhnung ganz unwirksam gewordene Morphinmenge wieder allgemeine Betäubung hervor. Auf die Beobachtung dieser habe ich mich meist beschränkt, da wie erwähnt, das Verhalten der Atmung beim Hunde häufig nicht charakteristisch genug ist. Dadurch war natürlich ein gewisses subjektives Moment nicht vermeidbar, ich glaube aber die hierin liegende Gefahr vermieden zu haben, besonders da ich alle Versuche von Mitbeobachtern kontrollieren ließ; in den Protokollen habe ich nur verzeichnet, was die unmittelbare Beobachtung ohne weiteres ergab.

Die Versuche sind insofern nicht abgeschlossen, als ich sowohl die Auswahl des anzuwendenden Eiweißes als auch die Frage der Dosierung nicht eingehender untersucht habe. Auch das ist fraglich, ob, wie im ersten Versuche, eine zweite Injektion unwirksam bleibt. — Weitere Versuche müssen hier Aufklärung bringen.

Einen Versuch habe ich mit subcutaner Injektion von Jodkalium angestellt, und zwar aus folgendem Grunde. Gottlieb[1]) hat gefunden, daß Thyreoideaextrakt in 2 Versuchen die Morphinzerstörung hemmt. Wenn nun auch die Zerstörung des Morphins sicherlich keine wesentliche Rolle bei der Gewöhnung spielt, so war doch eine Einwirkung möglich, und deshalb habe ich als Vorversuch Jodkalium eingespritzt. Scheinbar war der Ausfall positiv, doch bedarf das noch durchaus weiterer Versuche.

Wie beschrieben, war die Wirkung unserer Eingriffe auch in den positiv verlaufenden Versuchen nicht von Dauer; in einzelnen Versuchen ist sie zwar noch am 2. und ganz schwach vielleicht noch am 3. Tage erkennbar, das Wesentliche ist aber mit dem 1. Nachtage erschöpft, die Unempfindlichkeit gegen das Alkaloid ist wieder die alte. Dies ist natürlich von besonderer Bedeutung für eine Verwertung des Ergebnisses beim Morphinismus des Menschen, der allerdings nicht mit der Unempfindlichkeit identisch ist, mit dieser aber wohl doch parallel geht. Trotzdem glaube ich aber, daß ein Versuch auch hier gemacht werden soll, da ja beide als wirksam gefundenen Maßnahmen — Aderlaß und Eiweißinjektion — ganz ungefährlich sind. Es läßt sich erhoffen, daß sie wenigstens dazu helfen können, dem Patienten die ersten Tage der Entwöhnung mit ihren schweren Abstinenzerscheinungen zu erleichtern.

---

[1]) D. m. W. 1911, 23. Nov.

Im vorhergehenden haben wir den Einfluß parenteraler Eiweißzufuhr auf einen, wenn man so sagen darf, chronisch-pharmakologischen Vorgang kennengelernt; es lag nun nahe, nachzusehen, wie die Eiweißzufuhr die akute pharmakologische Wirkung beeinflußt. Hier war am ehesten etwas bei einer pharmakologischen Wirkung zu erwarten, von der wir wissen, daß sie unmittelbar von dem normalen Fungieren des Blutes, als des Trägers der bei der Protoplasmaktivierung in Tätigkeit tretenden Kräfte, abhängt. Als eine solche pharmakodynamische Wirkung habe ich die Zerstörung des Atropins durch Kaninchenblut gewählt; diese Versuche sind begonnen.

Zusammenfassung.

Es wird über Versuche berichtet, die Gewöhnung an Morphin bei Hunden zu unterbrechen. Unwirksam waren u. a. intranenöse Injektionen von Säuren und Alkalien, wirksam dagegen Aderlaß und parenterale Eiweißzufuhr. Hierdurch war stets eine teilweise Wiederherstellung der Empfindlichkeit gegen Morphin zu erzielen. Die Dauer dieser war nur kurz, spätestens nach einigen Tagen war die alte Unempfindlichkeit wieder vorhanden.

Über die Wirkung des Pilocarpins auf den Glykogengehalt der Organe.

Von

Curt Hornemann.

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Hamburg [Allgem. Krankenhaus St. Georg].)

(Eingegangen am 2. Juli 1921.)

Aus der Arbeit von Bornstein und Vogel[1]) war zu ersehen, daß bei Hunden und Kaninchen nach subcutaner Pilocarpininjektion eine Hyperglykämie auftritt. Ich habe diesen Befund in einigen Versuchen nachgeprüft und bestätigt gefunden (siehe Tabelle II); er diente mir zur Grundlage für die Beobachtungen, über die ich hier berichten möchte.

Bornstein und Vogel hatten gefunden, daß die Pilocarpinglykämie sich antagonistisch durch Atropin beeinflussen läßt. Ein Eingriff, der sonst häufig toxische Glykämien zu verhindern imstande ist, ist die Sauerstoffzufuhr. So gibt Seelig[2]) an, daß sich die Ätherglykosurie durch O_2 verhindern läßt. Franz Müller[3]) gibt das gleiche für die Acetonglykosurie, Sauer[4]) für die Curareglykosurie an. Jedoch lassen sich nach Seelig Adrenalin- und Pankreasdiabetes nicht durch O_2-Zufuhr beeinflussen.

Um die Wirkung der O_2-Zufuhr auf die Pilocarpinglykämie zu untersuchen, wurde im wesentlichen die Anordnung von Seelig benutzt. Sauerstoff wurde durch die Vena femoralis in Mengen von etwa 50 ccm pro kg Tier und Stunde zugeleitet. Nachdem die O_2-Zufuhr eine halbe Stunde im Gange war, wurde eine Blutprobe entnommen, in der Blutzucker nach Bang sowie der Hämoglobingehalt bestimmt wurde. Sofort nach der Blutentnahme wurde Pilocarpin. hydrochlor. 2—3 mg pro kg Tier subcutan gegeben. Schon nach wenigen Minuten zeigten Speichelsekretion, Erbrechen und Durchfälle die Wirkung des Pilocarpins an. Eine halbe Stunde nach der Injektion wurde wieder eine Blutprobe entnommen. Es zeigte sich jedesmal eine Eindickung

des Blutes nach Pilocarpin, gemessen am Hämoglobingehalt (Autenriethsche Methode) von der Größenordnung, wie sie Bornstein und Vogel beschrieben.

Über die Blutzuckerwerte gibt Tabelle I Auskunft.

Tabelle I.

Wirkung des Pilocarpins auf den Blutzucker bei Hunden bei Sauerstoffzufuhr.

Hund Nr.	Blutzuckerwerte a) vor Pilocarpin-Injektion. %	b) 1/2h nach Pilocarpin-Injektion %
1	0,196	0,372
2	0,103	0,162
3	0,103	0,145

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß auch nach Sauerstoffzufuhr eine starke Hyperglykämie durch Pilocarpin bewirkt wird, daß also O_2-Zuleitung die Erhöhung des Blutzuckers zu verhindern nicht imstande ist.

Es erschien mir nun weiter von besonderer Wichtigkeit, zu untersuchen, ob der Zucker aus dem Leberglykogen stammte. Diese Versuche wurden auch an Hunden ausgeführt. Es kam dabei vor allen Dingen darauf an, Tiere von gleicher Körperkonstitution zu verwenden. Ich nahm deshalb 2mal je 2 Hunde vom gleichen Wurf, die im Institut geboren, 4 Wochen lang Muttermilch erhalten, dann mit gleicher Kost gefüttert, annähernd ein gleiches Körpergewicht hatten. Beim 3. Versuch verwandte ich 2 ganz junge im Institut geborene Tiere vom gleichen Wurf, die gerade soweit waren, daß sie von der Mutter weggenommen werden konnten. Je ein zusammengehöriges Paar dieser Hunde wurde zu jedem Versuch benutzt. Der eine von ihnen bekam Pilocarpin injiziert, während der zweite als Kontrolltier diente. Um möglichst einwandfreie Resultate zu erzielen, tötete ich einmal zuerst das Pilocarpintier und dann das Normaltier, das andere Mal verfuhr ich in umgekehrter Reihenfolge. Zwischen dem Tod der beiden Tiere lag immer eine Zeit von 1/4—1 Stunde. Die Tiere hatten tags zuvor 5 g Traubenzucker pro kg mit Schlundsonde bekommen, was einer starken Zuckerbelastungsprobe beim Menschen entspräche, und hungerten dann bis zum Versuch etwa 20

Stunden. Dem Normaltiere wurde zur Bestimmung des Hämoglobin- und Blutzuckergehaltes aus der Ohrvene Blut abgenommen. Hierauf wurde das Tier durch Schlag auf den Kopf getötet, dann wurden sofort Leber, Muskel sowie bei einem der 3 Tierpaare Milz und Niere herausgenommen. Die Organe wurden gleich durch eine Fleischhackmaschine getrieben und in heiße bereitgestellte Kalilauge getan, um eine weitere Fermentation zu verhindern. Die Fällung des Glykogens geschah nach Pflüger[5]), die Bestimmung des aus dem Glykogen durch Hydrolyse gewonnenen Zuckers nach der Bertrandschen[6]) Methode. Bei einigen Versuchen bestimmte ich das Glykogen gleichzeitig nach Maquenne-Lehmann. Die Resultate beider letzten Methoden stimmten völlig miteinander überein. Die polarimetrischen Bestimmungen des Glykogens selbst sowie titrimetrischen Bestimmungen des aus Glykogen gewonnenen Zuckers zeigten genügende Übereinstimmung. Zur Berechnung der Glykogenmengen legte ich die durch Titration gewonnenen Zahlen zugrunde, da sie eine größere Sicherheit boten.

Bei den Pilocarpinhunden wurde nach Traubenzuckergabe am Vortage, Hunger usw. wie bei den Kontrolltieren aus der Ohrvene Blut zur Hämoglobin- und Blutzuckerbestimmung entnommen, dann subcutan 3 mg Pilocarpin pro kg eingespritzt, um nach 40—50 Minuten die Blutuntersuchung zu wiederholen. Sofort nach zweiter Blutentnahme wurde das Tier getötet und wie das Kontrolltier weiter verarbeitet.

Die Resultate sind in Tabelle II (S. 272) wiedergegeben.

Es zeigt sich in diesen Versuchen zunächst, was das Blut anlangt, die gleiche Eindickung und Hyperglykämie, wie sie früher schon beobachtet war. Ich brauche darauf hier nicht weiter einzugehen.

Bei allen Tieren zeigt sich ferner eine starke Verminderung des Leberglykogens nach Pilocarpininjektionen und zwar sowohl prozentual wie absolut. Der Glykogengehalt ging regelmäßig auf $^1/_3$—$^1/_2$ des Normaltieres zurück; der Glykogenschwund ist also so groß, wie bei den meisten glykosurisch wirkenden Giften, z. B. dem Adrenalin. Weniger, aber auch deutlich, nimmt der prozentuelle Glykogengehalt der Muskeln ab; immerhin ist bei der großen Masse der Muskulatur die absolute Abnahme des Glykogens nicht unbeträchtlich. Auch in Milz und Niere scheint

Tabelle II.
Glykogengehalt bei Hunden vom gleichen Wurf.

a) Kontroll-Hund.

Paar Nr.	Datum	Gewicht des Tieres	Hämoglobingehalt	Blutzucker	Gewicht der Leber	Leberglykogen			Muskelglykogen			Milz- und Nierenglykogen	
						%			%			Gewicht	
		kg	%	%	g	titr.	polar.	g	titr.	polar.	g	g	%
1	3. V. 1921	3,900	57	0,091	149	3,35	3,6	4,99	0,58	0,58	9,69	—	—
2	9. V. 1921	4,220	47	0,113	143	2,14	2,08	3,06	0,38	0,36	6,86	47	0,0232
3	2. VI. 1921	0,890	37	0,153	56	1	0,8	0,56	0,062	0,06	0,236	—	—

b) Pilocarpin-Hund.

Paar Nr.	Datum	Vor d. Pilocarpin-Injektion			Nach der Pilocarpin-Injektion											
		Gewicht des Tieres	Hämoglobingehalt	Blutzucker	Gewicht des Tieres	Hämoglobingehalt	Blutzucker	Gewicht der Leber	Leberglykogen			Muskelglykogen			Milz- und Nierenglykogen	
									%			%			Gewicht	
		kg	%	%	kg	%	%	g	titr.	polar.	g	titr.	polar.	g	g	%
1	3. V. 1921	4,330	53	0,079	4,140	70	0,124	162	0,56	0,56	0,9	0,48	0,5	8,90	—	—
2	9. V. 1921	4,030	53	0,127	—	71	0,171	131	0,36	0,35	0,39	0,12	0,11	2,07	43	0,046
3	2. VI. 1921	1,100	31	0,155	1,080	31	0,384	68	0,30	0,32	0,204	0,052	0,06	0,245	—	—

eine Abnahme des Glykogengehaltes durch Pilocarpin bewirkt zu werden.

Zusammenfassung.

1. Die Pilocarpinhyperglykämie wird durch O_2-Zufuhr nicht verhindert.

2. Bei der Pilocarpinhyperglykämie verschwindet der größte Teil des Glykogens aus der Leber; weniger stark scheint der Glykogenschwund der Muskulatur ausgesprochen zu sein.

Literatur.

[1]) Bornstein und Vogel diese Zeitschr. 118, 1. — [2]) Seelig, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 52, 481. — [3]) Müller, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 46, 61. — [4]) Sauer, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 49, 423. — [5]) Pflüger, Abderhalden Bd. II, S. 1070. — [6]) Bertrand und Neuberg, Der Harn, Bd. I, S. 396.

Parasympathicusgifte und Blutzucker.

Von

A. Bornstein und **R. Vogel.**

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Hamburg [Krankenhaus St. Georg].)

(Eingegangen am 2. Juli 1921.)

Vor einiger Zeit hatten wir die Beobachtung gemacht, daß durch Pilocarpin bei verschiedenen Versuchstieren der Zuckergehalt des Blutes beträchtlich erhöht wird[1]). Kurze Zeit nach der Pilocarpininjektion stieg der Blutzucker an, um nach einigen Stunden wieder auf die Norm, meist sogar unter die Norm zu fallen. Wir haben diesen Befund mit großer Regelmäßigkeit immer wieder erhoben, er ist neuerdings durch Beobachtungen von Hornemann[2]), ferner durch Versuche von Bornstein und Müller[3]) bestätigt worden, so daß an seiner Richtigkeit nicht gezweifelt werden kann.

Pilocarpin ist ein Parasympathicusgift, es reizt die Endigungen aller vegetativen Nerven, die nicht dem sympathischen System angehören, und ist in seiner Wirkung sehr spezifisch. Die Mutmaßung liegt nahe, daß es sich bei der Pilocarpinglykämie ebenfalls um eine Parasympathicusreizung handelt, wenngleich natürlich auch eine zufällige Nebenwirkung des Giftes vorliegen könnte, die mit dem Parasympathicus nichts zu tun hat. Atropin, das ebenso typisch den Parasympathicus lähmt wie Pilocarpin ihn reizt, zeigte sich deutlich als Antagonist des Pilocarpins in seiner Wirkung auf den Blutzucker. Das spricht im Sinne unserer Vermutung.

Immerhin sind Gründe vorhanden, die gegen diese Theorie

---

[1]) Diese Zeitschr. 1921.

[2]) Im gleichen Heft dieser Zeitschr.

[3]) Werden demnächst publiziert.

sprechen, und sie sind so gewichtiger Natur, daß wir glaubten, bei der Beschreibung der Pilocarpinglykämie zunächst von jeder Deutung absehen zu müssen.

Seit den Versuchen von Claude Bernard und von Eckhard über den Zuckerstich weiß man nämlich, daß ein enger Zusammenhang zwischen vegetativem Nervensystem und Zuckerstoffwechsel besteht, aber man weiß auch, daß beim Zuckerstich der Impuls zur Zuckerbildung in der Leber über den Splanchnicus, also über den sympathischen Nerven geht. Auch von den Glykämien, die bisher nach Giften beobachtet wurden, wissen wir, daß sie durch Sympathicusreizung entstehen, wenn überhaupt Nerveneinfluß bei ihrer Entstehung im Spiele ist. So wirkt bekanntlich auch Adrenalin durch Sympathicusreizung. Daher zieht auch Pollack, der die bekannten toxischen Glykämien und Glykosurien klassifiziert, die Möglichkeit einer Entstehung durch Parasympathicusreizung kaum in Betracht. Von späteren Autoren erwägt sie, soweit uns bekannt ist, nur Mc Guigan, um sie aber auf Grund seiner Pilocarpinversuche abzulehnen. Wir haben schon in unserer ersten Arbeit ausgeführt, daß seine Versuche nicht beweisend sind.

Um die Frage zu klären haben wir zunächst noch eine Reihe weiterer Beobachtungen mit Parasympathicusgiften angestellt. Die Technik war im wesentlichen die gleiche wie bei unseren früheren Versuchen; die Bestimmungen wurden nach der Bangschen Mikromethode ausgeführt, die Blutprobe immer morgens nüchtern nach 10—20stündigem Hungern aus der Ohrvene entnommen.

I. Versuche an Hunden.

a) Physostigmin.

In allen Versuchen findet sich $^1/_2$—1 Stunde nach Verabfolgung des Physostigmin eine Erhöhung des Blutzuckers, die nach 2 Stunden wieder abfällt (siehe Tabelle I). Sie ist in einigen Versuchen stark ausgesprochen, in anderen nicht so stark, aber immerhin noch deutlich die Fehlergrenzen überschreitend. Wir hatten den Eindruck, daß gerade beim Physostigmin durch die starke psychomotorische Unruhe und namentlich durch den Tremor und die Krämpfe der Anstieg des Blutzuckers etwas hintangehalten wurde. Aus den Hämoglobinwerten der Tabelle I geht hervor, daß das Physostigmin genau wie das Pilocarpin eine Bluteindickung bewirkt. Dadurch wird, wie schon in der früheren Arbeit auseinandergesetzt, der Blutzucker eher erniedrigt. Im ganzen wirkt Physostigmin in der gleichen Weise wie Pilocarpin auf den Blutzucker ein.

Tabelle I.
Physostigmin.

Versuch	Blutzucker					Hämoglobin				
	vorher in %	$^1/_2$ h in %	1h in %	2h in %	3h in %	vorher in %	$^1/_2$ h in %	1h in %	2h in %	3h in %
16. III. 1921. Graues ♀ 7,9 kg, 8 mg Physostigmin salicyl-subcutan.	0,071	0,159	0,157	0,100	0,078	71	72,5	104	101	99,5
5. III. 1921. ♀ 11,08 kg, 17 mg Physostigmin salicyl-subcutan.	0,075	0,109	0,140	0,118	Salivation.	71	89,75	102,5	99,5	
21. III. 1921. (Ders. Hund wie 5. III.) 11,5 mg Physostigmin salicyl-subcut.	0,078	0.101	0,104	0,084		68	89,75	101	104	
11. III. 1921. ♂ 15,5 kg, 7,5 mg Physostigmin salicyl, nach 1h 17′: 6 mg Atropin sulf. subcutan.	0,084	0,100	20′ n. Atropin 0,112	1h 20′ nach Atropin 0,067	13′ nach Inj. I: starke Salivation, Tremor, Trachealrasseln usw. 8′ n. Atropin Erscheinungen im Abklingen.	62,5	78,5	20′ n. Atropin 65,5	1h 20′ nach Atropin 58,25	

b) Cholin und Acetylcholin.

Nach Cholinchlorid, subcutan gegeben, fand sich ebenfalls eine deutliche Erhöhung des Blutzuckers, die schon sehr schnell nach 10—20 Minuten auftrat, und in 2 Versuchen sehr bald, in einem langsamer wieder zurückging. Die gleiche Erhöhung des Blutzuckers fand sich nach entsprechend geringen Mengen von Acetylcholin (siehe Tabelle II).

Cholin ist ein Stoffwechselprodukt des Körpers, von dem man annimmt, daß es in ähnlicher Weise wie das Adrenalin für das Zusammenarbeiten der verschiedenen Organe von Wichtigkeit ist. Wie Adrenalin den Sympathicus reizt, so reizt Cholin den Parasympathicus. Daß dieses physiologische Stoffwechselprodukt von Einfluß auf den Zuckerstoffwechsel ist, erscheint uns daher besonders bemerkenswert. In der Literatur findet sich eine Angabe von Frank und Isaac[1]), daß durch Cholin der Blut-

[1]) Frank und Isaac, Zeitschr. f. exp. Pathol. u. Therap. 7, 335.

Tabelle II. Cholin und Acetylcholin.

Versuch	Blutzucker					Hämoglobin				
	I (vorher) in %	II in %	III in %	IV in %	V in %	I in %	II in %	III in %	IV in %	V in %
22. IV. 1921. Bulldogge ♀ 16,4 kg. Cholin hydrochlor. 1,25 g subcutan (nach 12′ Beginn der Salivation).	0,091	25′ 0,119	1h 0,094	—	—	67	82	68	—	—
27. V. 1921. Hund ♂ 3,8 kg. 0,4 g Cholin hydrochlor. Nach 17′ dieselbe Dosis.	0,088	12′ nach Inj. II. Probe 1—3: 0,128 Probe 4: 0,145	18′ n. Inj. II. 0,177	—	—	67	67	72	—	—
27. VI. 1921. Hnnd ♂ 5,2 kg. 1 g Cholin hydrochlor. = 0,2 pro kg. 3′ nach Inj. Erbrechen, 7′ nach Inj. Beginn der Salivation.	0,095	20′ 0,177	55′ 0,091	2h 0,077	—	70	20′ 88	55′ 78	2h 68	—
2. VI. 1921. Hund ♂ 8,43 kg. I. Atropin sulf. 6,3 mg (0,75 mg pro kg). II. Nach 12′ Cholin hydrochlor. 1,7 g (0,2 g pro kg).	0,092	7′ nach Inj. I. 0,097	20′ n. Inj. II. 0,087	30′ n. Inj. II. 0,098	50′ n. Inj. II. 0,102	90	7′ n. Inj. I. 77	20′ n. Inj. II. 77	30′ n. Inj. II. 85	50′ n. Inj. II. 91
28. VI. 1921. Hund ♂ 2,83 kg. I. Atropin sulf. 2,1 mg (0,75 mg pro kg). II. Cholin hydrochl. 0,56 g (0,2 g pro kg). (10′ nach Atropin.)	0,132	20′ nach Cholin. 0,138	40′ n. Chol. 0,119	60′ n. Chol. 0,109	—	51,25	20′ n. Chol. 50	40′ n. Chol. 51	60′ n. Chol. 52	-
7. 5. 21. Hund ♂ 3,7 kg. 20 mg Acetylcholin. Nach 13′: 47 mg Acetylcholin.	0,094	14′ nach Inj. II. 0,120	29′ n. Inj. II. 0,116	—	—	46	42	—	—	—

zucker beim Hunde nicht erhöht wird. Die Blutentnahme war $1^3/_4$ Stunden nach der subcutanen Injektion des Cholins ausgeführt worden. Nach dieser Zeit kann, wie aus unseren Versuchen hervorgeht, die Wirkung des Cholins schon längst wieder abgeklungen sein; auch die übrigen Erscheinungen nach Cholin (Salivation, Erbrechen) sind meist recht flüchtig. Ein tatsächlicher Widerspruch zwischen unseren Versuchen und denen der obengenannten Autoren besteht demnach nicht. — Cholin hat nach Dale[1]) eine muscarinartige Wirkung, d. h. eine Wirkung auf den Parasympathicus und eine nicotinartige Wirkung. Beide Wirkungen können nach Dale dadurch voneinander getrennt werden, daß nur die erstere durch Atropin sich aufheben läßt. Es zeigt sich, wie aus Tabelle II hervorgeht, daß am atropinisierten Hunde eine Steigerung des Blutzuckers nach Cholin nicht eintritt. Die Cholinhyperglykämie läßt sich, wie die analoge Erscheinung nach Pilocarpin, durch Atropin verhindern.

Wir haben somit die wesentlichsten Parasympathicusreizgifte untersucht, mit Ausnahme des Muscarins, das wir uns nicht verschaffen konnten. Alle zeigten eine gleichartige Beeinflussung des Blutzuckerspiegels. Sie wirken also insgesamt so, als ob durch Parasympathicusreizung eine Vermehrung des Blutzuckers hervorgerufen würde. Hiermit stimmt überein, daß durch Atropin diese Hyperglykämie sich antagonistisch beeinflussen läßt. Wir haben infolgedessen unseren folgenden Versuchen die Arbeitshypothese zugrunde gelegt, daß nicht nur durch Reizung des Sympathicus, sondern auch des Parasympathicus eine Erhöhung des Blutzuckerspiegels hervorgerufen werden könnte[2]). Wie aus den Versuchen von Hornemann[3]) hervorgeht, wird diese Er-

[1]) Journ. of pharmacol. a. exp. therap. 6, 147 (zit. nach Zentralbl. f. Physiol. 1915).

[2]) Daß durch das übliche Schema „Sympathicus- resp. Parasympathicusgift" auf dem Gebiete des Zuckerstoffwechsels ebensowenig eine vollständige Beschreibung sämtlicher Tatsachen möglich ist, wie auf dem Gebiete der Darminnervation, scheint uns selbstverständlich. Gerade Versuche über Antagonismen, denen die nächste Mitteilung gewidmet sein soll, sprechen in diesem Sinne. Dennoch schien es uns zweckmäßig, von der Hypothese einer Parasympathicusglykämie auszugehen, da sie jedenfalls die einfachste Interpretation unserer hier gegebenen Befunde bilden würde und wir bisher über keine Beobachtungen verfügen, die unbedingt gegen diese Hypothese sprechen.

[3]) Siehe die folgende Arbeit.

höhung des Blutzuckers genau so durch Ausschüttung des Glykogens, besonders aus der Leber, hervorgerufen, wie wir es auch für die Sympathicusgifte wissen. Dennoch ist die Glykämie nach Parasympathicusreizung, wie in einer späteren Arbeit wahrscheinlich gemacht werden soll, von der durch Sympathicusreizung erzeugten verschieden. — Gehen wir von dieser Hypothese aus, so erscheint es uns für weitere Fragestellungen wichtig, ob normalerweise ein Tonus im Parasympathicus besteht, der für das Niveau des Blutzuckers von Bedeutung ist. Wir haben daher mit kleinen und mit großen Dosen von Atropin Versuche angestellt. Die Versuche mit kleinen Dosen haben wir schon früher[1]) erwähnt; die mit großen Dosen sind in Tabelle III wiedergegeben. Sie

Tabelle III. Atropin.

Versuch	Hämoglobin			Blutzucker		
	vorher in %	1/2h in %	1h in %	vorher in %	1/2h in %	1h in %
17. XII. 1920. Hündin ♀ 16,63 kg. 6 mg Atropin sulf. subcutan.	68	68	71	0,113	0,120	0,110
28. IV. 1921. Pintscher ♀ 15,97 kg. 12,3 mg Atropin sulf. subcutan.	59,5	66,75	—	0,058	0,068	—
29. IV. 1921. Gelbe milzlose ♀ 12,44 kg. 9,5 mg Atropin sulf. subcutan.	85,5	82,5	82,5	0,088	0,074	0,08f

zeigen, daß durch Atropin beim normalen Hunde keine Veränderung des Blutzuckers gesetzt wird. Die Veränderungen, die sich in den Zahlen finden, zeigen teils eine ganz geringe Zunahme, teils eine geringe Abnahme nach Atropin. Diese Schwankungen liegen durchaus innerhalb der Fehlergrenzen. Der Blutzucker scheint also durch den normalen Tonus des Parasympathicus nicht beeinflußt zu werden.

II. Beobachtungen an Diabetikern.

Außer am Tier haben wir auch am normalen Menschen Beobachtungen angestellt, ob durch Atropin bis zur doppelten Maximaldosis (2 mg) eine Beeinflussung des Blutzuckers zu

[1]) l. c.

erreichen wäre. Der Blutzucker blieb von Atropin unbeeinflußt. Wir hatten jedoch, wie schon besprochen, festgestellt, daß die Hyperglykämie nach Pilocarpin und auch nach Cholin im Tierversuch sehr wohl durch Atropin verhindert werden kann. Wir legten uns daher die Frage vor, ob nicht auch der Blutzucker bei glykämischen Menschen einer solchen Beeinflussung durch Atropin unterläge.

Es war uns von früheren Beobachtungen her bekannt, daß die Wirksamkeit des Atropins, das unter verschiedenen Bedingungen dem menschlichen Körper einverleibt wurde, sehr wohl aus der Pulsfrequenz beurteilt werden kann[1]). Wir bemerkten schon bei unseren ersten Diabetikern, daß die Pulsfrequenz nicht in dem Maße anstieg, wie wir es nach unseren sonstigen Erfahrungen erwarten durften, z. B.:

Auguste B. (Ulcus ventriculi), nach 1 mg Atropin subcutan Anstieg der Pulsfrequenz von 52 auf 80 Schläge.

Pat. Börst (Diabetiker), 6% Zucker im Urin. Nach 1 mg Atropin subcutan: Sinken der Pulsfrequenz von 66 auf 56 Schläge, dann wieder Anstieg auf 68 Schläge $^3/_4$ Stunde nach der Injektion.

Worauf diese geringe Reaktion der Diabetiker dem Atropin gegenüber beruht, vermögen wir nicht zu sagen. Es könnte sich entweder um eine Veränderung der Reaktion des Vagus auf Atropin oder um eine leichtere Zerstörung des Atropins im diabetischen Organismus handeln. Jedenfalls sahen wir uns veranlaßt, nicht zu kleine Dosen Atropin zu benutzen, wenn überhaupt ein Erfolg des Atropins eintreten sollte.

Wir verwendeten zunächst das Atropin subcutan und stellten in einigen besonderen Kontrollversuchen fest, daß in der Beobachtungszeit von 1—1$^1/_2$ Stunden der Zuckergehalt des Blutes bei Diabetikern meist keine Veränderung zeigt, die über die Fehlergrenzen der Untersuchungsmethode hinausgeht. Später stellten wir auch Versuche mit intravenöser Injektion von Atropin an, die den Vorteil hatten, daß auf diesem Wege das Atropin schneller zur Wirksamkeit gelangt. Wir konnten dann den Versuch gleich an den Kontrollversuch anschließen, indem wir nach der ersten Blutentnahme einfach eine halbe Stunde warteten, dann eine zweite Blutentnahme vornahmen, darauf sofort Atropin intravenös injizierten und schließlich den Ver-

---

[1]) S. Brune, Inaug.-Diss., Hamburg 1920.

Tabelle IV. Atropin bei Diabetikern.

	Blutzucker				
	Entnahme I (vorher) in %	Entnahme II in %	Entnahme III in %	Entnahme IV in %	Entnahme V in %
16. IV. 1921. Pat. Börst*) ♂ Diabetes. Körpergew. 53 kg; 6 % Zucker im Urin. 1 mg Atropin sulf. subcutan.	0,363	30′ nach Inj. 0,379	40′ nach Inj. 0,384	1h 10′ nach Inj. 0,378	
22. IV. 1921. Pat. Börst. 2 mg Atropin sulf. subcutan.	0,256	20′ nach Inj. 0,230	55′ nach Inj. 0,284	1h 30′ nach Inj. 0,230	2h n. Inj. 0,223
20. IV. 1921. Pat. Börst. 1 mg Atropin sulf. subcutan.	0,316	1h nach Inj. 0,297			
13. V. 1921. Pat. Börst, in den letzten Tagen zuckerfrei, teils 0,1—0,4 % Zucker im Urin. 2 mg Atropin sulf. subcutan.	0,211	35′ nach Inj. 0,223	1h 20′ nach Inj. 0,210		
18. IV. 1921. Pat. Franzen ♀ 45 kg. 65 Jahre Diabetes. 1 mg Atropin sulf. subcutan.	0,293	1h nach Inj. 0,282	1h 15′ nach Inj. 0,276		
23. IV. 1921. Pat. Franzen. 2 mg Atropin sulf. subcutan.	0,289	40′ nach Inj. 0,289	1h 20′ nach Inj. 0,277		
30. IV. 1921. Pat. Hinsch ♂ 20 Jahre. 43 kg. Diabetes grav. 1,3 mg Atropin sulf. subcutan.	0,348	50′ nach Inj. 0,324	1h 20′ nach Inj. 0,295		
11. V. 1921. Pat. Steinborn ♂ 49 J. Diabetes Aceton. 1,5 mg Atropin sulf. subcutan.	0,420	50′ nach Inj. 0,346	1h 10′ nach Inj. 0,359		

*) Patient Börst reagierte auf die erste Atropininjektion mit der Pulsfrequenz nicht in der üblichen Weise; er zeigte dabei kein Sinken, sondern einen leichten Anstieg des Blutzuckers. Ein solcher Anstieg findet sich gelegentlich auch sonst nach Hungern allein (siehe Patient Hardwig). — Später reagierte Börst sowohl mit der Pulsfrequenz wie mit dem Blutzucker auf Atropin. Als der Blutzucker zuletzt so weit sank, daß der Urin zuckerfrei wurde, trat eine Reaktion des Blutzuckers auf Atropin nicht mehr auf.

	Blutzucker				
	Entnahme I (vorher) in %	Entnahme II in %	Entnahme III in %	Entnahme IV in %	Entnahme V in %
14. V. 1921. Pat. Steinborn ♂ 1 mg Atropin sulf. intravenös. Vorher 1h nach Entn. I bis Entn. II gehungert!	0,494	nach 1h Hunger. 0,485	28′ nach Inj. 0,290		
21. V. 1921. Pat. Hardwig ♂ 69 Jahre. 51,5 kg. Urinzucker 1,9 %. 1h Hunger zwischen Entnahme I u. Entnahme II. Wie beim vorigen Versuch. Dann 1,5 mg Atropin subcutan und nach 20′ nochmals 1 mg Atropin subcutan.	0,190	nach 1h Hunger. 0,221	30′ n. Inj. II. 0,228	1h 10′ n. Inj. II. 0,191	
19. V. 1921. Pat. Jesper ♀ Diabetes. 2,7 mg Atropin subcutan.	0,211	nach 45′ 0,193	n. 1h 20′ 40′ n. Inj. II. 0,196	nach 1h 35′. 0,194	
20. V. 1921. Pat. Noth ♂ 47 Jahre. 59,0 kg. Diabetes, comatöse Atmung, Pericarditis. Zwischen Entnahme I u. Entnahme II 1h Hunger. 1 mg Atropin intravenös.	0,370	nach 1h Hunger. 0,378	40′ n. Inj. II. 0,355		
27. V. 1921. Pat. Dammann ♂ Diabetes. 6,1 % Zucker. Zwischen Entnahme I u. Entnahme II 1h Hunger. 1,5 mg Atropin sulf. intravenös.	0,274	nach 1h Hunger. 0,269	25′ n. Inj. II. 0,235		

such nach einer weiteren halben Stunde mit einer dritten Blutentnahme beendigten.

Die Versuche wurden stets nüchtern 12—13 Stunden nach der letzten Mahlzeit angestellt. Das Blut wurde aus den Ohrläppchen durch einen nicht zu kleinen Schnitt entnommen. Da gerade beim Diabetiker die Blutzuckerwerte durch ein Schwanken der Blutkonzentration vielleicht stärker beeinflußt werden können als beim normalen Menschen, legten wir besonderen Wert auf fortlaufende Bestimmungen des Hämoglobingehaltes. Es zeigte

sich fast immer keine Veränderung. Die Blutprobe nach Atropininjektion entnahmen wir fast immer erst nachdem die Pulsfrequenz ihre maximale Höhe erreicht hatte.

Wir haben bisher 8 Diabetiker beobachtet, von denen 4 deutlich mit einem Abfall des Blutzuckers reagierten, der die Fehlergrenze wohl sicher überschritt. (Patienten Hinsch, Steinborn, Dammann, Börst.) In 3 weiteren Fällen war ebenfalls ein Absinken des Blutzuckers zu finden, das aber wohl noch als innerhalb der Fehlergrenzen liegend beurteilt werden muß (Patienten Noth, Franzen, Jesper). 2 weitere Patienten reagierten nicht mit einer Veränderung des Blutzuckers auf Atropin.

Es geht u. E. aus diesen Beobachtungen die überraschende Tatsache hervor, daß im Krankheitsbild mancher Diabetiker eine Komponente enthalten ist, die sich durch das den Parasympathicus lähmende Gift Atropin ausschalten läßt.

Von unseren Fällen sind es nicht wenige, die zu dieser Gruppe gehören. Es scheint sich demnach nicht um einen Ausnahmezustand zu handeln. Man könnte sogar die Frage aufwerfen, ob nicht vielleicht bei allen Diabetikern eine solche Komponente enthalten ist und ob bei der geringen Empfindlichkeit der Diabetiker dem Atropin gegenüber nicht vielleicht in den negativ verlaufenden Fällen unsere Atropindosis zu gering gewesen ist. Auf diese Frage geben unsere Versuche keine Antwort.

Auch über die sonstigen Bedingungen, unter denen die Senkung der Glykämie durch Atropin auftrat, können wir wenig aussagen. Auffallend ist der Befund bei Patient Börst, der bei hohen Blutzuckerwerten deutlich auf Atropin reagiert, während sich später, als der Blutzucker niedriger wurde (er sank auf 0,21%) keine Beeinflussung durch Atropin zeigte. Während dieses letzten Versuches war im Urin des Patienten kein Zucker mehr enthalten.

Diese Tatsachen scheinen uns für die Theorie des Diabetes nicht unwichtig zu sein. Wir berichten nur kurz über sie, ohne uns an dieser Stelle vorläufig über ihre theoretische und therapeutische Bedeutung weiter auslassen zu wollen.

Zusammenfassung.

1. Sämtliche bisher untersuchten Reizgifte des parasympathischen Nervensystems erhöhen den Blutzucker normaler Hunde. Es wurden bisher untersucht: Pilocarpin, Physostigmin, Cholin und Acetylcholin.

2. Wie alle parasympathischen Funktionen wurde das Zustandekommen dieser Glykämien durch Atropin verhindert bzw. verlangsamt.

3. Bei einer Anzahl von Diabetikern wurde der Blutzucker durch Atropin herabgesetzt.

Die Verteilung der Chinaalkaloide im Organismus.

II. Mitteilung.

Von

Alfred Schnabel.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität in Basel.)

(Eingegangen am 4. Juli 1921.)

Über den eigentümlichen Verlauf des Alkaloidspiegels im Serum von Tieren, denen Optochinlösungen intravenös eingespritzt wurden, wurde an anderer Stelle[1]) berichtet. Auf Grund von Versuchen wurde dort gezeigt, daß der Optochinspiegel im Serum der Tiere wenige Minuten nach der intravenösen Injektion nur wenige Bruchteile (3—6%) der eingespritzten Alkaloidmenge anzeigt, um dann wieder anzusteigen und allmählich abzusinken. Zur Erklärung dieser Erscheinung wurden Reagensglasversuche mit Optochin und Blutkörperchenaufschwemmungen verschiedener Tierarten und des Menschen herangezogen, aus denen hervorging, daß der Alkaloidspiegel in der Suspensionsflüssigkeit (Serum) auch im Reagensglas nicht konstant bleibt, sondern daß der Optochingehalt des Serums nach der anfänglich durch Adsorption bedingten Abnahme allmählich zunimmt, ohne daß in den Milieuverhältnissen irgendeine Änderung vorgenommen worden wäre. Es wurde ferner vermutungsweise ausgesprochen, daß dasselbe Verhalten wie die roten Blutkörperchen, d. h. nach anfänglicher Aufnahme des Alkaloids darauffolgende Abgabe desselben — auch die anderen Körperzellen zeigen dürften und daß dieser Erscheinung eine besondere Bedeutung für den Verlauf des Alkaloidspiegels im Tierexperiment zukommt.

In demselben Aufsatz wurden auch einige andere Fragen andeutungsweise angeschnitten, so diejenige hinsichtlich der

---

[1]) Diese Zeitschr. 112. 1920.

Natur des Vorganges der Alkaloidaufnahme durch die Erythrocyten, ob es der rein physikalische Vorgang der Adsorption oder eine chemische Bindung des Alkaloids sei, u. a. m. Der Zweck dieser Mitteilung ist es, über Versuche, die sich auf die Entscheidung der betreffenden Fragen beziehen, zu berichten.

Die Technik des Optochinnachweises war dieselbe, wie die in der erwähnten Arbeit angewendete, jedoch unter Berücksichtigung der späteren Modifikation.

Zur Feststellung des Verhaltens von Organzellen den Chinaalkaloiden gegenüber wurden die Organe von menschlichen Leichen, von Kaninchen und Meerschweinchen verwendet. Da sich zwischen den Organzellen dieser Arten keine wesentlichen Differenzen ergeben haben, seien nur die mit Meerschweinchenorganen ausgeführten Versuche angeführt.

Ein 430 g schweres ungebrauchtes Meerschweinchen wird vollkommen entblutet, das Gehirn und beide Nieren werden im Mörser getrennt verrieben, in 0,85 proz. Kochsalzlösung aufgeschwemmt, durch Gaze filtriert und zentrifugiert; die nach dem Zentrifugieren über dem Sediment stehende milchige Flüssigkeit wird abpipettiert und das Gehirn bzw. Nierensediment in frischer, steriler NaCl-Lösung gut verteilt. Mehrere Röhrchen mit je 1,9 ccm der Gehirn- bzw. Nierenaufschwemmung werden mit je 0,1 ccm einer 1 promill. Optochinlösung gemischt und in die Brutkammer (37° C) gestellt. Nach 2, 30, 60 und 90 Minuten wird je ein Röhrchen mit der Gehirn- bzw. Nierenaufschwemmung zentrifugiert und die darüberstehende zellfreie Flüssigkeit auf ihren Optochingehalt geprüft. Die gefundenen Optochinkonzentrationen waren:

Für die Gehirnaufschwemmung:

1. Probe,	nach	2	Min.	zentrifugiert	1 : 60 000	
2.	„	„ 30	„	„	1 : 70 000	(anstatt d. rechnungsgemäß
3.	„	„ 60	„	„	1 : 50 000	erwarteten 1 : 20 000).
4.	„	„ 90	„	„	1 : 40 000	

Für die Nierenaufschwemmung:

1. Probe	nach	2	Min.	zentrifugiert	1 : 40 000	(anstatt d. rechnungsgemäß
2.	„	„ 30	„	„	1 : 60 000	erwarteten 1 : 20 000).
3.	„	„ 60	„	„	1 : 40 000	
4.	„	„ 90	„	„	1 : 30 000	

Aus obigen Versuchen ist zu ersehen, daß sich Organzellen im wesentlichen ähnlich verhalten wie die Erythrocyten, indem sie das Alkaloid aus der Lösung zuerst aufnehmen, um es dann allmählich an die Umgebung abzugeben, und zwar vollzieht sich dieser Vorgang erst nach einer gewissen Zeit, im erwähnten Bei-

spiel nach ca. 1 Stunde. Denn anstatt der Optochinkonzentration 1 : 20 000 findet sich schon nach 2 Minuten in der Flüssigkeit, in der die Gehirnzellen suspendiert sind, nur eine solche von 1 : 60 000, also fast 70% weniger. Nach 30 Minuten tritt diese Abnahme noch stärker in Erscheinung, offenbar verstreicht erst einige Zeit, bis sich das Gleichgewicht hergestellt hat. Nach weiteren 30 Minuten aber und noch mehr nach insgesamt 90 Minuten tritt eine deutliche Zunahme des Optochingehaltes in der Suspensionsflüssigkeit ein.

Bei der Nierenaufschwemmung spielt sich der Vorgang in analoger Weise ab; wohl bestehen quantitative Unterschiede in der Art, daß die Gehirnaufschwemmung mehr vom Alkaloid aufgenommen hat. Denn nach 2 Minuten findet sich in der Suspensionsflüssigkeit der Nierenaufschwemmung eine Konzentration von 1 : 40 000, also 50% weniger als rechnungsgemäß erwartet werden konnte. Auch hier erfolgt zuerst eine weitere Abnahme der Optochinkonzentration in der Außenflüssigkeit, die jedoch bei weiterem Stehen bei 37° einer Zunahme Platz macht. Aus diesen quantitativen Unterschieden zwischen der Gehirn- und Nierenaufschwemmung lassen sich aber keine Schlußfolgerungen ableiten, etwa im Sinne einer ausgesprocheneren Aufnahmefähigkeit der Gehirnsubstanz, da ja die Versuchsbedingungen sonst nicht vollkommen identisch sind. Die Größe und Zahl der adsorbierenden Oberflächen sind in beiden Fällen nicht gleich und dadurch können in erster Linie quantitative Differenzen verursacht werden.

Im Anschluß an diesen letzten Versuch sei auf neuere Arbeiten von Ramsden, Lipkin und Whitley, ferner von Lipkin hingewiesen, welche die Speicherung des Chinins durch verschiedene Organe untersuchten und dabei wesentliche Unterschiede zwischen einzelnen Organen feststellen konnten. So erwiesen sich in erster Linie die Nebennieren, ferner die Milz und die Nieren als in hohem Grade befähigt, Chinin zu speichern. Auch fanden diese Autoren, daß einzelne Organe, wie Leber, Nieren, Muskeln, Darm und vielleicht auch Pankreas das Chinin weitgehend zu zerstören vermögen, wobei sich ein noch wirksames Produkt, das Chitenin, bildet.

Die Annahme, daß der eigentümliche Verlauf des Optochinspiegels im Serum der intravenös gespritzten Tiere durch das erwähnte Verhalten der Blutkörperchen und Organzellen bedingt sei, erscheint also durch obige Versuchsergebnisse weitgehend gestützt. Denn wenn im Reagensglas ein Anstieg ohne Schaffung

eines anderen Gefälles — wie es z. B. durch Wechsel der Suspensionsflüssigkeit entstehen könnte — möglich ist, dann sind die Bedingungen im tierischen Organismus hierfür noch günstiger, da durch die definitive Ausscheidung des Alkaloids aus dem Kreislauf ein geändertes Gefälle zwischen den Zellen und der Blut- und Gewebsflüssigkeit tatsächlich entsteht.

Im Zusammenhang damit sei noch auf eine Möglichkeit hingewiesen, die, wenn auch indirekt, für den Verlauf des Alkaloidspiegels mitverantwortlich sein kann. Es ist die innige Beziehung zwischen dem Blut- und Lymphkreislauf. Das in die Blutbahn gebrachte, kristalloid gelöste Alkaloid verläßt, sofern es nicht adsorbiert wurde, prompt die Blutbahn und gelangt in die perivasculären Lymphräume. Von hier kann es, wenn es nicht vollständig adsorbiert wird, auf dem Wege des Ductus thoracicus in die Blutbahn gelangen. Es ist ohne weiteres verständlich, daß auch dieser Umstand von Einfluß sein kann. Allerdings kommt auch hier die Abgabe des Alkaloids durch die Zellen an die Umgebung und die dadurch bedingte Erhöhung des Optochinspiegels in erster Linie in Betracht, so daß sich dieser regulatorische Einfluß der Lymphwege als ein indirekter darstellen würde.

Auf die wichtigen Beziehungen des Ductus thoracicus zum Blutkreislauf haben zuletzt Teale und Embleton in einer Studie über die Verbreitungswege der bakteriellen Exotoxine aufmerksam gemacht. Diese Autoren injizierten u. a. auch Tetanustoxin Katzen intravenös und konnten bereits nach 5—10 Minuten das Toxin im Ductus thoracicus nachweisen. Sie weisen darauf hin, daß dieser niedrig molekulare Körper aus den Capillaren sofort in die Spalträume des Bindegewebes, von dort in den Ductus thoracicus und mit dem Chylus wieder ins Blut gelangt.

Ein wichtiger Beleg für die Bedeutung der Abgabe des Alkaloids durch die Zellen konnte von Versuchen erwartet werden, bei denen es nachzuweisen gelänge, daß in einer durch Defibrinieren gewonnenen Blutprobe, die einem kurz vorher mit Optochin intravenös gespritzten Tier entnommen worden war, der Optochingehalt im Serum dieser Probe nach einiger Zeit ansteigt. Ein derartiger Versuch sei hier angeführt.

Ein 2 kg schweres Kaninchen erhält 10 ccm einer Optochinverdünnung 1 : 500 in eine Ohrvene eingespritzt. Nach 3 und nach 20 Minuten wird je ein Aderlaß gemacht, jedesmal ein Teil des Blutes sofort zentrifugiert, der andere zuerst defibriniert, 2 Stunden bei 37° C stehengelassen und dann erst zentrifugiert. Von sämtlichen 4 Blutproben wird das Serum auf seinen

Gehalt an Optochin untersucht. Berechnet man die Blutmenge des Kaninchens mit $^1/_{15}$ des Körpergewichtes, also mit ca. 140 ccm, dann sollte die Optochinkonzentration im Blute nach Injektion der obengenannten Optochinmenge 1 : 7500 betragen, wenn keine Adsorption und Diffusion eintreten würde. Im Serum der nach 2 Minuten entnommenen und ohne Defibrinieren sofort zentrifugierten Blutprobe ist aber nur eine Optochinverdünnung von kaum 1 : 200 000, also weniger als 4% nachweisbar; in der zu gleicher Zeit entnommenen, jedoch vorher defibrinierten und 2 Stunden bei 37° C stehengelassenen Probe beträgt die nachweisbare Optochinkonzentration im Serum 1 : 100 000, also ca. 8%. Der Vollständigkeit halber sei angeführt, daß die Optochinkonzentration des Serums der ohne 2stündiges Stehen untersuchten, defibrinierten Blutprobe ebenfalls nur 1 : 200 000 betrug. Das Serum der 20 Minuten nach der intravenösen Injektion entnommenen und sofort zentrifugierten Blutprobe enthält das Optochin in einer Verdünnung 1 : 800 000, also kaum 0,5% der Ausgangsmenge; das zur gleichen Zeit entnommene, jedoch defibrinierte und 2 Stunden bei 37° stehengelassene Blut zeigt einen Optochingehalt im Serum von 1 : 200 000, also 4%.

Aus diesem Versuch ist zu ersehen, daß der tatsächliche Gehalt des Vollblutes an Alkaloid ein höherer ist als der im Serum nachweisbare und daß sich das Alkaloid ungleichmäßig zwischen Erythrocyten und Suspensionsflüssigkeit verteilt; dieser Unterschied im Optochingehalt verwischt sich aber allmählich zugunsten des Serums, wenn man das Blut vorher defibriniert und stehen läßt. Es tritt dann das ein, was in früheren Reagensglasversuchen gezeigt wurde und als wahrscheinlicher Vorgang im Kreislauf angenommen wird, nämlich eine Abgabe des Alkaloids durch die Erythrocyten an das umgebende Medium. Dieser Anstieg dokumentiert sich also auch hier hauptsächlich als Funktion der Zeit.

Im Anschluß an den letzten Versuch sei jedoch auf einen Einwand aufmerksam gemacht, der mit Recht sowohl hier als auch gegen die schon früher (l. c.) mitgeteilten Versuche erhoben werden könnte; es ist dies der Einwand, daß das Defibrinieren des Blutes für den Ausfall der Versuche nicht ganz belanglos sei, daß vielleicht sowohl die Aufnahme als auch die beobachtete Abgabe des Alkaloids durch die Erythrocyten eine Folge der durch das Defibrinieren bedingten Schädigung der Erythrocytenmembran sein könnte. Diese Frage hat gerade in der letzten Zeit im Zusammenhang mit Untersuchungen über die Permeabilität der roten Blutkörperchen für verschiedene Ionen, Zucker usw. zu einer lebhaften Diskussion geführt. So behaupten Falta und Richter-Quittner, daß die Angaben über die Verteilung von

Stoffen zwischen Blutkörperchen und Plasma für das zirkulierende Blut nicht zutreffen; sie finden, daß die Blutkörperchen vom Hirudinblut weder Chlorionen, noch sonstige Elektrolyte, noch Glykose enthalten und daß derartige Befunde nur dann möglich seien, wenn die Erythrocyten durch Zusatz von Kalium oxalatum, Natriumfluorid oder durch Defibrinieren geschädigt wurden; in die Blutkörperchen gelangte Substanzen dieser Art würden sofort wieder austreten oder zerstört werden. Auch Brinkmann und van Dam geben an, daß die roten Blutkörperchen unter physiologischen Umständen völlig impermeabel seien, solange kein Gerinnungsanfang eingetreten sei. Diese Angaben konnten von Ege, Hagedorn, Gad Andresen, Warburg u. a. nicht bestätigt werden; diese Autoren fanden auch die durch Zentrifugieren oder Hirudinzusatz gewonnenen Erythrocyten für Ionen und Glucose durchgängig.

Bei diesem Sachverhalt lag es nahe, auch für die Chinaalkaloide die Bedeutung des Defibrinierens im Vergleich mit einem anderen Verfahren der Blutkörperchengewinnung festzustellen. Ein diesbezüglicher Versuch sei angeführt.

Einem großen Kaninchen werden durch Herzpunktion 30 ccm Blut entnommen; 15 ccm davon werden sofort zentrifugiert, die zweite Hälfte mittels Glasperlen defibriniert und durch sterile Gaze filtriert. In 2 parallelen Reihen werden in mehreren Röhrchen je 1,9 ccm der durch Zentrifugieren bzw. durch Defibrinieren gewonnenen Blutkörperchenaufschwemmungen mit je 0,1 ccm einer 1 promill Optochinlösung gemischt und in die Brutkammer (37° C) gestellt. Nach 5, 30, 60, 90 und 120 Minuten wird je 1 Röhrchen des durch Zentrifugieren bzw. Defibrinieren gewonnenen optochinhaltigen Blutes zentrifugiert und das darüberstehende Serum auf seinen Gehalt an Optochin untersucht. Schon die äußere Betrachtung beider Serumproben belehrt darüber, daß das durch Defibrinieren mittels Glasperlen gewonnene Blut relativ stark geschädigt wurde. Das Serum dieser Probe ist deutlich hämolytisch im Vergleich mit dem klaren Serum der zweiten, durch Zentrifugieren gewonnenen Blutprobe. Daß nicht etwa das zugesetzte Optochin diesen Unterschied verursacht hat, beweist ein Vergleich der Blutproben ohne Optochin. Die Bestimmung des Optochingehaltes ergibt Folgendes:

Für das durch Zentrifugieren gewonnene Blut:

1. Probe,	5	Min.	bei 37°,	Optochinkonzentration	1 : 40 000	(anstatt der
2. „	30	„	„ „	„	1 : 40 000	rechnungs-
3. „	60	„	„ „	„	1 : 35 000	gemäß erw.
4. „	90	„	„ „	„	1 : 30 000	1 : 20 000).
5. „	120	„	„ „	„	1 : 30 000	

Für das durch Defibrinieren gewonnene Blut:

1. Probe,	5 Min.	bei 37°,	Optochinkonzentration	1 : 50 000	(anstatt der
2. „	30 „	„	„	„	1 : 50 000	rechnungs-
3. „	60 „	„	„	„	1 : 40 000	gemäß erw.
4. „	90 „	„	„	„	1 : 30 000	1 : 20 000).
5. „	120 „	„	„	„	1 : 30 000	

Aus obigen Versuchen folgt, daß sich durch Defibrinieren gewonnene Erythrocyten im Prinzip nicht anders verhalten als defibriniertes Blut. Bei beiden erfolgt zuerst eine Aufnahme des zugesetzten Alkaloids, auf die allmählich beim Stehen der Proben bei 3 ° C eine Zunahme in der Suspensionsflüssigkeit erfolgt. Ein gradueller Unterschied zwischen beiden Blutarten ist wohl unverkennbar, indem das durch Defibrinieren gewonnene Blut bei Einhaltung möglichst gleicher Versuchsbedingungen aus der zugesetzten Optochinlösung verhältnismäßig mehr aufnimmt als das durch Zentrifugieren gewonnene. Diese Erscheinung könnte man eventuell im Sinne einer die Alkaloidaufnahme begünstigenden Wirkung des Defibrinierens auf die roten Blutkörperchen deuten.

Es bedarf keiner näheren Erklärung dafür, daß sich dieser Beweis der relativen Unabhängigkeit des Verhaltens der Zellen den Chinaalkaloiden gegenüber von der Gewinnungsart für die Organzellen, die sich nur auf eine wenig schonende Weise gewinnen lassen, in Reagensglasversuchen nicht erbringen läßt. Darüber könnten nur Durchspülungsversuche an herausgeschnittenen, blutfreien Organen Aufschluß geben.

Die nächste zu entscheidende Frage war die nach der Natur des Vorgangs der Aufnahme des Optochins durch die Erythrocyten. Schon in dem ersten, auf die Verteilung der Chinaalkaloide bezüglichen Aufsatz (l. c.) wurde auf Grund orientierender Versuche der Meinung Ausdruck gegeben, daß die Aufnahme des Optochins primär nach den Gesetzen der Adsorption und nicht durch chemische Bindung erfolgt. Diese Annahme konnte durch entsprechende, vielfach variierte Versuchsanordnungen bestätigt werden. Es möge dies aus Folgendem ersehen werden:

Durch Aderlaß beim Kaninchen frisch gewonnenes Blut wird defibriniert und durch Gaze filtriert, je 0,9 ccm desselben in 7 Röhrchen mit je 0,1 ccm einer Optochinlösung in physiologischer Kochsalzlösung 1 : 1000, 1 : 2000, 1 : 3000, 1 : 4000, 1 : 5000, 1 : 6000 und 1 : 7000 gemischt. Nach 5 Minuten langem Stehen bei 37° werden sämtliche Proben zentrifugiert und das darüberstehende Serum auf seinen Optochingehalt untersucht.

Die Bestimmung ergibt:

1. Probe, gefundene Optochinkonzentration	1 : 15 000	anstatt	1 : 10 000
2. „ „ „	1 : 30 000	„	1 : 20 000
3. „ „ „	1 : 60 000	„	1 : 30 000
4. „ „ „	1 : 70 000	„	1 : 40 000
5. „ „ „	1 : 120 000	„	1 : 50 000
6. „ „ „	1 : 130 000	„	1 : 60 000
7. „ „ „	1 : 180 000	„	1 : 70 000

Bei Zusatz von 0.1 ccm einer beliebigen Optochinlösung zu 0,9 ccm defibrinierten Blutes sollte eine 10fache Verdünnung der betreffenden Optochinlösung erfolgen. Wenn man das Erythrocytenvolum unberücksichtigt läßt: Für die Proben 1—7 sollte also eine Optochinkonzentration 1 : 10 000, 1 : 20 000, 1 : 30 000, 1 : 40 000, 1 : 50 000, 1 : 60 000 und 1 : 70 000 resultieren. Die tatsächlich nachweisbaren Konzentrationen in den einzelnen Serumproben sind aber schwächer und zwar betragen sie in derselben Reihenfolge aufgezählt 1 : 15 000, 1 : 30 000, 1 : 60 000, 1 : 70 000, 1 : 120 000, 1 : 130 000 und 1 : 180 000. Berechnet man die rechnungsgemäß erwartete Konzentration für jede Probe mit 100%, dann bedeutet die tatsächlich nachweisbare eine Abnahme um 25% für die 1. und 2. Probe, um 50% für die 3., 43% für die 4., 58% für die 5., 54% für die 6. und 61% für die 7. Probe.

Aus obigem Versuch ist ohne Zweifel zu ersehen, daß die Aufnahme des Optochins durch die Erythrocyten primär nach den Gesetzen der Adsorption erfolgt. Denn in den Proben mit den stärksten Optochinkonzentrationen wurde relativ am wenigsten von den Blutkörperchen aufgenommen (25%); mit der weiteren Verdünnung des Alkaloids nimmt die Menge des adsorbierten Anteils zu und dementsprechend die in der Suspensionsflüssigkeit nachweisbare Konzentration des Optochins ab, und zwar von 25% bis 50% bzw. 61%. Die graphische Darstellung dieser Beziehungen würde eine Adsorptionsisotherme ergeben; die geringen Senkungen bei den Proben 4 und 6 liegen im Bereiche der Fehlergrenzen des Bestimmungsverfahrens.

Zum Schluß sei noch kurz auf die Frage eingegangen, inwieweit die mit dem Optochin erzielten Versuchsergebnisse auch für die anderen Chinaalkaloide, insbesondere für das Chinin, Geltung haben. Die diesbezüglichen Versuche sind noch nicht abgeschlossen. Doch ergaben die bisher ausgeführten Reagensglasversuche eine prinzipielle Übereinstimmung im Verhalten den Blutzellen gegenüber. Ein derartiger Versuch sei hier angeführt:

Je 0,9 ccm frisch defibrinierten Kaninchenblutes werden in 8 Röhrchen mit je 0,1 ccm einer 1 proz. Lösung von Chininum hydrochloricum in physio-

logischer Kochsalzlösung gemischt und in die Brutkammer gestellt. Nach 5, 30, 45, 60, 75, 90, 105 und 120 Minuten wird je 1 Röhrchen zentrifugiert und das darüberstehende Serum auf seinen Gehalt an Chinin untersucht. Die Bestimmung des Chinins erfolgte in derselben Weise wie beim Optochin, d. h. durch Prüfung der Hemmungseigenschaft des Chinins dem Reduktionsvermögen der Pneumokokken gegenüber. Bei Anwendung geeigneter Pneumokokkenstämme waren auch Chininkonzentrationen von 1 : 1 000 000 noch imstande, die Entfärbung des Methylenblaus zu beeinträchtigen; bei gleichzeitig angestellten Versuchen mit Optochin erwiesen sich noch Verdünnungen des letzteren bis 1 : 20 000 000 als wirksam.

Die Bestimmung ergibt:

1.	Probe,	5	Min.	bei	37°,	Chininkonzentration	1 : 2500	anstatt	1 : 1000
2.	„	30	„	„	„	„	1 : 2000	„	1 : 1000
3.	„	45	„	„	„	„	1 : 2000	„	1 : 1000
4.	„	60	„	„	„	„	1 : 2000	„	1 : 1000
5.	„	75	„	„	„	„	1 : 2000	„	1 : 1000
6.	„	90	„	„	„	„	1 : 1500	„	1 : 1000
7.	„	105	„	„	„	„	1 : 1500	„	1 : 1000
8.	„	120	„	„	„	„	1 : 1500	„	1 : 1000

Aus diesem Versuch ist zu ersehen, daß auch das Chinin zuerst von den Erythrocyten aufgenommen wird, um dann an die Umgebung abgegeben zu werden, daß also auch hier im wesentlichen die gleichen Beziehungen bestehen wie zwischen dem Optochin und den Erythrocyten. Es ist wahrscheinlich, daß auch die Aufnahme des Chinins primär nach den Gesetzen der Adsorption erfolgt.

Zusammenfassung.

Die bei früheren Versuchen mit roten Blutkörperchen verschiedener Tierarten beobachtete Erscheinung der Aufnahme von Optochin und der darauffolgenden allmählichen Abgabe desselben an die Umgebung konnte auch bei Experimenten mit Organzellen gesehen werden: Nieren- und Gehirnaufschwemmungen zeigten das gleiche Verhalten. Diese Tatsache wird in erster Linie zur Erklärung des sonderbaren Verlaufs des Optochinspiegels im Serum intravenös gespritzter Tiere herangezogen, wo nach anfänglichem, steilem Abfall des Optochingehaltes ein späteres Ansteigen und darauf allmähliches Absinken zu sehen ist.

Proben defibrinierten Blutes, die man einem kurz vorher mit Optochin intravenös gespritzten Kaninchen entnommen hatte, zeigen nach einigem Verweilen bei 37° C einen höheren Gehalt an Optochin im Serum als bei der sofortigen Untersuchung nach

der Entnahme, was dem Anstieg des Optochingehaltes bei Reagensglasversuchen entspricht. Die Gewinnungsart der Erythrocyten besitzt für die Erscheinung der Aufnahme der Chinaalkaloide und deren Abgabe an die Umgebung keine besondere Bedeutung.

Die Aufnahme des Optochins durch die Blutkörperchen erfolgt primär nach den Gesetzen der Adsorption, denn aus konzentrierten Alkaloidlösungen nehmen die Erythrocyten relativ wenig (25%) auf, während sie aus verdünnten Lösungen über 60% aufzunehmen vermögen.

Auch das Chinin wird zuerst von den Blutkörperchen aufgenommen und dann allmählich an die Umgebung abgegeben, ohne daß in den Milieuverhältnissen irgendeine Änderung, wie Flüssigkeitswechsel oder dergleichen vorgenommen worden wäre.

Literatur.

Bönniger, M., diese Zeitschr. **103.** 1920. — Brinkman, E. und E. v. Dam, ebenda **105.** 1920. — Ege, R., ebenda **107.** 1920. — Falta, W. und M. Richter, ebenda **100.** 1919 und **114.** 1921. — Gad, K. L., ebenda **107.** 1920. — Lipkin, J. J., Ann. of trop. med. a. parasitol. **13.** — Ramsden, W., I. J. Lipkin und E. Whitley, ebenda **12.** — Schnabel, A., diese Zeitschr. **108** u. **112.** 1920. — Teale, F. H. und D. Embleton, Journ. of the roy. army med. corps **35,** Nr. 2. 1920. — Warburg, E. I., diese Zeitschr. **107.** 1920.

Über die Bestimmung zell- und keimschädigender Substanzen in dünnen Lösungen auf biologischem Wege.

II. Mitteilung.

Von

Alfred Schnabel.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Basel.)

(Eingegangen am 4. Juli 1921.)

Mit 4 Abbildungen im Text.

In einem früher erschienenen Aufsatz[1]) wurde ein Verfahren beschrieben, welches gestattet, relativ hohe Verdünnungen zellschädigender, chemisch definierter Substanzen quantitativ zu bestimmen. Das Verfahren beruht auf der Fähigkeit verschiedener Zellen (Bakterien), Methylenblau durch Reduktion in eine farblose Verbindung umzuwandeln und auf der Eigenschaft gewisser Substanzen, diesen Vorgang zu verzögern oder zu hemmen. Die Bestimmung erfolgte in der Weise, daß jene Verdünnung der zu untersuchenden Lösung unbekannter Konzentration festgestellt wurde, die die Reduktion des Methylenblaus durch Bakterien z. B., zu einem Zeitpunkt noch zu verhindern vermochte, in dem Kontrollen ohne die zu bestimmende Substanz bereits entfärbt waren. Durch Vergleich mit Lösungen bekannter Konzentration von derselben Substanz ließ sich die unbekannte Konzentration annähernd bestimmen.

Zur Erzielung genauerer Ergebnisse hat es sich aber als zweckmäßig erwiesen, nicht allein aus dem Stand der Entfärbung des Methylenblaus in einer Versuchsreihe zu einem bestimmten Zeitpunkt, und zwar in jenem, in dem die Kontrollen entfärbt waren, Schlüsse zu ziehen, sondern den Ablauf der Entfärbungs-

[1]) Diese Zeitschr. 108. 1920.

reaktion in einem bestimmten Zeitintervall durch zu verschiedenen kurz aufeinanderfolgenden Zeiten vorgenommene Ablesungen zu beobachten und zu notieren. Wie an erwähnter Stelle (l. c.) näher ausgeführt wurde, fallen die hier in Betracht kommenden Erscheinungen in das Gebiet der Entwicklungshemmung und sind dementsprechend dadurch gekennzeichnet, daß sie in erster Linie Funktionen der Konzentration der wirksamen Substanzen, der Zeit und der Zellzahl sind. Sehr dünne Lösungen zellschädigender Substanzen vermögen den Reduktionsvorgang nur zu verzögern, während erst Konzentrationen, die das Leben der Zellen dauernd schädigen und bei Bakterien das Wachstum verhindern, die Entfärbung des Methylenblaus gänzlich unmöglich machen. Diese Tatsache tritt bei den Versuchen in der Art in Erscheinung, daß sich in einer Versuchsreihe mit fallenden Mengen der wirksamen Substanz die Reduktion des Methylenblaus allmählich von den Proben mit schwachen Konzentrationen auf diejenigen mit stärkeren erstreckt.

Unter sonst gleichen Versuchsbedingungen ist der Ablauf dieser Entfärbungsreaktion in einer Versuchsreihe nur von der Art, in der die fortlaufende Verdünnung der Lösung einer wirksamen Substanz erfolgt, abhängig. Werden z. B. die Verdünnungen so ausgeführt, daß sie eine geometrische Progression mit dem Quotienten 2 bilden, dann wird der Entfärbungsvorgang in einem gewissen Zeitabschnitt anders verlaufen, als wenn der Quotient mehr oder weniger beträgt, wie man sich durch entsprechende Reihenversuche überzeugen kann. In jedem Falle aber, d. h. bei der Wahl eines bestimmten Quotienten, bietet der durch ein bestimmtes Zeitintervall beobachtete Entfärbungsvorgang ein recht charakteristisches Gepräge.

Als besonders praktisch erwies sich die graphische Darstellung des Reaktionsablaufes in einer Versuchsreihe im Ordinatensystem. Trägt man nämlich auf die Ordinate des Systems die im Versuche verwendeten Verdünnungen einer Lösung unbekannter Konzentration und auf die Abszisse die Zeit ein, zu der die jeweilige Ablesung des Standes der Entfärbung erfolgt, dann erhält man Kurven, die ein sehr charakteristisches Aussehen darbieten. Bei gleichbleibendem Verdünnungsmodus ist die Form dieser Kurve nur von der Konzentration der Ausgangslösung abhängig. Es bedarf keiner näheren Erläuterung dafür, daß man die Form

dieser Kurve durch willkürliche Wahl des Verdünnungsmodus willkürlich gestalten kann.

Folgender Versuch möge die Anwendungsart des Verfahrens näher erläutern:

0,9 ccm defibrinierten Kaninchenblutes werden mit 0,1 ccm einer Lösung von Optochinum hydrochloricum 1 : 3000 in physiologischer Kochsalzlösung gemischt und zentrifugiert. Es sei nun die im Serum vorhandene Optochinkonzentration zu bestimmen. Zu diesem Zwecke wird das Serum auf seine Fähigkeit, die Reduktion des Methylenblaus durch optochinempfindliche Pneumokokken zu beeinträchtigen, untersucht.

Von einer geeigneten 24 stündigen Blutbouillonkultur von Pneumokokken werden 0,2 ccm als Dosis minima reducens, d. h. als jene kleinste Keimmenge festgestellt, die einen Tropfen einer bestimmten Methylenblaulösung nach 1 Stunde 50 Minuten bei einem Gesamtvolumen von 1 ccm (Nährbouillon als Ergänzungsflüssigkeit) zu reduzieren vermag. Dementsprechend wird die Kultur 5 fach mit steriler Nährbouillon verdünnt. Das zu untersuchende Serum wird hierauf mittels der Kulturverdünnung fortlaufend 20-, 40-, 80-, 160-, 320-, 640-, 1280- und 2560 fach verdünnt, der 1 ccm betragende Inhalt eines jeden Röhrchens mit einem Tropfen Methylenblaulösung vermischt, mit Paraffinöl überschichtet und in die Brutkammer (37° C) gestellt. 3 Röhrchen ohne das optochinhaltige Serum dienen als Kontrollen (siehe Tabelle I).

Tabelle I.

1. Röhrchen:	1 ccm Kulturverd.	1 : 5,	Serumverd.	1 : 20	je 1 Tropfen Methylenblaulösung, Paraffinöl, 37° C
2. „	1 „ „	1 : 5,	„	1 : 40	
3. „	1 „ „	1 : 5,	„	1 : 80	
4. „	1 „ „	1 : 5,	„	1 : 160	
5. „	1 „ „	1 : 5,	„	1 : 320	
6. „	1 „ „	1 : 5,	„	1 : 640	
7. „	1 „ „	1 : 5,	„	1 : 1280	
8. „	1 „ „	1 : 5,	„	1 : 2560	
Kontrollen:	1 „ „	1 : 5.			

Nach 1 Stunde 50 Minuten sind die Kontrollen und die Röhrchen 5 bis 8 mehr oder weniger entfärbt, während die Proben 1—4 noch vollkommen blau sind; nach 1 Stunde 55 Minuten ändert sich dieser Zustand nicht. Nach weiteren 5 Minuten zeigt das 4. Röhrchen beginnende Entfärbung, nach 2 Stunden 5 Minuten das 3. Erst nach 2 Stunden 40 Minuten beginnt sich das 2. Röhrchen zu entfärben, während das 1. Versuchsröhrchen auch nach 3 Stunden noch blau bleibt.

Diesem Ablauf der Entfärbung in der Röhrchenreihe entspricht die beigefügte Kurve (Abb. 1).

Der Einfachheit halber sind auf die Ordinate die Röhrchennummern und nicht die dazugehörigen Verdünnungen des zu

untersuchenden Serums eingetragen, und zwar entspricht das 1. Röhrchen der 20fachen, das 2. der 40fachen, das 3. der 80fachen Verdünnung des Serums usw. Der Anfang der Kurve ist durch den Zeitpunkt, in welchem die Kontrollen ohne Serum entfärbt

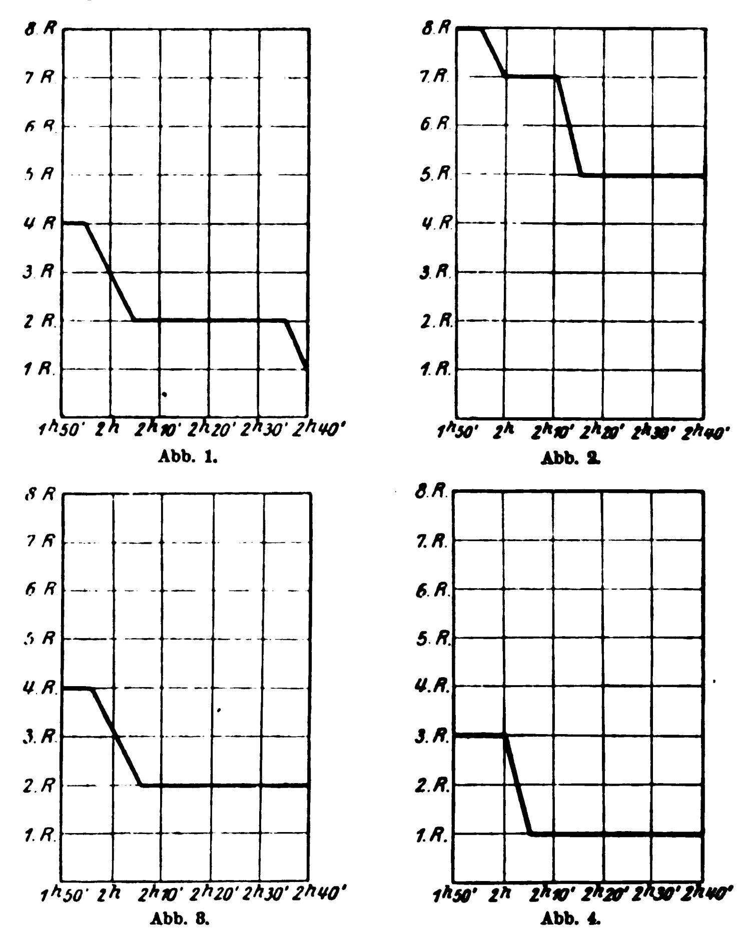


Abb. 1. Abb. 2. Abb. 3. Abb. 4.

sind, und durch die Nummer jenes Röhrchens mit der schwächsten Konzentration, welches zur selben Zeit noch nicht entfärbt ist, markiert; jeder weitere Punkt der Kurve entspricht derjenigen Probe, die zu der betreffenden Ablesungszeit noch nicht entfärbt ist. Um nun auf Grund dieser Kurve die gesuchte Optochinkonzentration feststellen zu können, werden mehrere Optochinlösungen bekannter Konzentration auf ihre hemmende Kraft

geprüft und für dieselben in der oben angegebenen Weise Entfärbungskurven angelegt, und zwar kommen beliebige Optochinkonzentrationen zur Anwendung, wie 1 : 10 000, 1 : 60 000, 1 : 120 000 usw., im ganzen z. B. 10 verschiedene Konzentrationen. Die einzelnen Optochinlösungen werden fortlaufend 20-, 40-, 80fach usw. verdünnt und auch im übrigen wird dieselbe Versuchstechnik wie im obigen Beispiel angewendet. Es seien hier 3 verschiedenen Optochinlösungen entsprechende Entfärbungskurven angeführt (Abb. 2, 3 u. 4); die Abb. 2 entspricht der Optochinlösung 1 : 10 000, die Abb. 3 der Lösung 1 : 60 000 und die Abb. 4 der Optochinlösung 1 : 120 000. Vergleicht man die Abb. 1, welche die Entfärbungskurve der gesuchten Optochinkonzentration im Serum darstellt, mit den 3 anderen, dann erkennt man sofort ihre fast vollkommene Identität mit der Abb. 3, welche die Entfärbungskurve der Optochinlösung 1 : 60 000 ist. Diese Identität der Kurven gestattet den Schluß, daß die ihnen entsprechenden Ausgangslösungen von Optochin, d. h. die unbekannte im Serum und die bekannte, einander gleich sind, daß also die Optochinkonzentration im untersuchten Serum 1 : 60 000 beträgt.

Nebenbei sei auf die aus diesem Versuch ersichtliche Tatsache der weitgehenden Absorption des Optochins durch die Erythrocyten hingewiesen. Denn bei einem Zusatz von 0,1 ccm einer Optochinlösung 1 : 3000 zu 0,9 ccm defibrinierten Blutes sollte rechnungsgemäß eine Konzentration von mindestens 1 : 30 000 (bei Vernachlässigung des Erythrocytenvolumens) resultieren; tatsächlich beträgt aber die Optochinkonzentration 1 : 60 000, also nur 50% der erwarteten; soviel wurde von den Blutkörperchen aus der Lösung aufgenommen.

Aus den beigefügten Abbildungen ist ferner das Verhältnis der Wirkung zweier Optochinkonzentrationen zu ersehen, die zueinander im Verhältnis 1 : 2 stehen. Die den Optochinlösungen 1 : 60 000 und 1 : 120 000 entsprechenden Entfärbungskurven (Abb. 3 u. 4) zeigen ebenfalls eine weitgehende Ähnlichkeit; der wesentliche Unterschied zwischen beiden besteht darin, daß die Kurve in der Abb. 3 um „ein Röhrchen“ nach oben verschoben erscheint; es kommt darin die Tatsache zum Ausdruck, daß der Entfärbungsvorgang in der Versuchsreihe mit der 2mal stärkeren Ausgangskonzentration 1 : 60000 jeweils — zur gleichen Ablesungszeit — um ein Röhrchen hinter der Versuchsreihe mit der Ausgangslösung 1 : 120 000 zurückbleibt. Wäre also z. B. die Entfärbungskurve in der Abb. 4 die einer zu bestimmenden, unbekannten

Optochinlösung, dann würde aus dem Vergleich mit der Abb. 3 folgen, daß die gesuchte Optochinkonzentration halb so stark ist als die der Abb. 3 entsprechende, also 1 : 120 000 beträgt.

Zusammenfassung.

Das früher beschriebene Verfahren zur Bestimmung zellschädigender Substanzen mittels der Reduktion des Methylenblaus und der Beeinträchtigung dieses Vorganges durch wirksame Stoffe wird dahin ergänzt, daß nicht aus dem Stand der Entfärbung zu einem bestimmten Zeitpunkt, sondern aus dem Reaktionsablauf während eines gewissen Zeitintervalls Schlüsse über die zu bestimmende Konzentration gezogen werden. Die den Ablauf des Entfärbungsvorganges versinnbildlichenden Kurven gestatten durch Vergleich mit bekannten Lösungen die gesuchte Konzentration bequem zu ermitteln.

Temperatur und Capillaraktivität.

(Erwiderung.)

Von

B. v. Issekutz.

(Aus dem Pharmakologischen Institut der kgl. ung. Universität Kolozsvár, geflüchtet nach Budapest.)

(Eingegangen am 5. Juli 1921.)

Vor 3 Jahren habe ich in dieser Zeitschrift[1]) eine Arbeit „Über den Einfluß der Temperatur auf die Capillaraktivität der Narkotica" veröffentlicht, gegen die, wie ich es aus äußeren Gründen[2]) erst jetzt erfahre, H. Winterstein[3]) mehrere Einwände erhoben hat. Winterstein meint (S. 235), ich hätte bei Steigerung der Temperatur für Salicylamid, Benzamid und Monacetin eine Zunahme der stalagmometrisch bestimmten Oberflächenspannung (gegen Luft) gefunden, obwohl ein solches Resultat mit der Theorie in Widerspruch ist, da „die Oberflächenspannung beim kritischen Punkt schließlich den Wert Null erreicht, so daß sich bei allen Stoffen mit Erhöhung der Temperatur eine Abnahme derselben erwarten läßt" (S. 246).

Diese Ansicht beruht auf einer irrtümlichen Deutung meiner Versuchsergebnisse die allerdings in einer ungewohnten Form veröffentlicht wurden. Wie ich nämlich im folgenden zeigen werde, lag es mir durchaus fern, zu behaupten, daß die Oberflächenspannung der genannten Narkotica mit der Temperatur wächst; ich fand vielmehr, daß ihre Capillaraktivität (d. h. die Fähigkeit, die Oberflächenspannung des Wassers zu erniedrigen) bei 33—40° kleiner ist als bei 6°.

Um die bei verschiedenen Temperaturen gefundenen Tropfenzahlen miteinander vergleichen zu können, rechnete ich dieselben auf folgende Weise um: ich setzte in jedem Falle die Tropfenzahl des reinen Wassers = 100 und bezog die Tropfenzahl der Lösung (bei derselben Temperatur) auf diese Basis. So erhielt ich vergleichbare Relativzahlen, die also nur angeben, wie groß die Tropfenzahl einer Lösung bei einer bestimmten Temperatur wäre, wenn die Tropfenzahl des Wassers

---

[1]) Diese Zeitschr. 88, 213. 1918.

[2]) Die deutschen wissenschaftlichen Zeitschriften wurden 1919—1920 von den Rumänen nicht nach Siebenbürgen hineingelassen.

[3]) H. Winterstein, Die Narkose. Berlin 1919.

bei derselben Temperatur 100 betragen würde. Beispiel: Die relative Tropfenzahl einer Salicylamidlösung (1 : 600) beträgt bei 6° 101,9, bei 40° aber 100,6[1]); dies bedeutet jedoch nicht, daß die Oberflächenspannung dieser Lösung mit der Temperatur zunimmt, sondern nur, daß durch das Salicylamid die Oberflächenspannung des Wassers bei 6° mit 1,9%, bei 40° dagegen nur mit 0,6% verringert wird.

Berechtigt und mit der Theorie vereinbar war demnach meine Folgerung, daß die Capillaraktivität des Salicylamids mit der Temperaturerhöhung abnimmt.

Daß meine Messungen richtig sind, geht übrigens auch aus einer Arbeit von H. Winterstein[2]) hervor. Die von Hirschberg (unter Leitung von H. Winterstein) ermittelten Werte stimmen nämlich mit meinen Resultaten gut überein, wenn man die beiden Zahlenreihen auf gemeinschaftliche Basis bringt.

E. Hirschberg ermittelte nämlich bei 15,5° die Tropfenzahl des Wassers zu 104,7, die der $^{n}/_{100}$-Salicylamidlösung zu 105,7, die Abnahme der Oberflächenspannung des Wassers beträgt also 0,9%; bei 42,5° fand sie für die Tropfenzahl des Wassers 112,4, für die der Salicylamidlösung 113; die Erniedrigung der Oberflächenspannung beträgt hier nur 0,5%, ist also wesentlich kleiner als bei 15,5°.

Durch eine analoge Umrechnung erhält man aus den Zahlen von E. Hirschberg für Benzamid und Monacetin ($^{n}/_{100}$-Lösungen) folgende Resultate:

Abnahme der Oberflächenspannung des Wassers:

Benzamid: 2,3% (15,5°) und 0,7% (42,5°),
Monacetin: 5,0% (15,5°) und 1,4% (42,5°).

Übereinstimmend mit meinen Resultaten zeigen diese Zahlen, daß die Capillaraktivität der genannten Stoffe, welche für die Theorie der Narkose von Bedeutung sind, mit der Temperaturerhöhung abnimmt. Wenn dieses Ergebnis von H. Winterstein und mir den viscostagonometrischen Bestimmungen von R. Unger[3]) zu widersprechen scheint, so möchte ich dazu bemerken, daß die mit Stalagmometer und Viscostagonometer bestimmten Werte nach I. Traube und R. Somogyi[4]) miteinander nicht immer übereinstimmen. „Die Angaben des Stalagmometers beziehen sich auf eine frisch gebildete Oberfläche und sind danach dynamischer Natur, während die Angaben des Viscostagonometers sich auf eine alte Oberfläche nach mehr oder weniger vollständigem Eintritt des Gleichgewichts beziehen und somit statischer Natur sind.“ Die Bildungszeit eines Wassertropfens ist nämlich bei dem Viscostagonometer nach I. Traube etwa 8—9mal größer als beim Stalagmometer.

---

[1]) l. c. S. 216, Tabelle I. (Nebenbei bemerkt, enthält dieselbe einen Druckfehler: bei Salicylamid ist statt „$^{n}/_{30}$“ richtig „$^{n}/_{130}$“ zu setzen.)

[2]) Nach Versuchen von E. Hirschberg, diese Zeitschr. **100**, 81. 1919.

[3]) Diese Zeitschr. **89**, 283. 1918.

[4]) Internat. Zeitschr. f. physik.-chem. Biologie **1**, 485. 1914.

Bemerkungen zu der Abhandlung von Emil Baur und Eugen Herzfeld: „Über Gärung ohne Hefe“[1].

Von

A. Bau (Bremen).

(Eingegangen am 2. Juli 1921.)

Emil Baur und Eugen Herzfeld verwandten zur Hefe- oder überhaupt zellenfreien Gärung und unter Ausschluß von Enzymen ein Gemisch von Lösungen chemischer, mehr oder weniger gut definierter Substanzen, und zwar von Pepton, Casein, Dextrin, Lipoid, gallensauren Alkalien, doppeltkohlensaurem Natrium und Traubenzucker.

Die Anzeichen für „Gärung“ wurden darin gefunden, daß sich bei den Versuchen in Gegenwart von Traubenzucker bedeutend mehr Kohlensäure entwickelte als bei den blinden Versuchen ohne Traubenzucker, sowie, daß sich bei den Proben mit d-Glucose im Destillat Spuren bis faßbare Mengen eines die Jodoformreaktion gebenden Körpers nachweisen ließen, dessen im besten Fall errechnete Menge auf Äthylalkohol bezogen nur einen geringen Bruchteil an Alkohol gegenüber der entwickelten Kohlensäure ergab und somit in einem argen Mißverhältnis zu dem als „Alkoholgärung“ bezeichneten Vorgang stand.

Das Auffallendste bei den Versuchen von E. Baur und E. Herzfeld ist der Umstand, daß die von ihnen als Gärung bezeichnete Erscheinung nur dann eintritt, wenn die obengenannten Substanzen in der richtigen Reihenfolge gemischt werden. Hält man letztere nicht inne, so bleibt die „Gärung“ aus.

Wir sehen zunächst von diesem merkwürdigen Umstand ab.

Wie die Verfasser selbst mitteilen (S. 105), waren ihre Lösungen nicht steril, sie enthielten vielmehr Bakterien. Letztere gaben nach der Kultivierung in Bouillon und dann in Trauben-

[1]) Diese Zeitschr. 117, 96–112. 1921.

zuckerlösung, ohne und mit Pepton und Lipoid, unter Toluol keine Entwicklung von Kohlensäure. Es ist dies ein Beweis, daß die Bakterien eine Alkoholgärung nicht erzeugten. Die Verfasser haben aber keinen Versuch ausgeführt, wie sich die Bakterien in Gegenwart von Bicarbonat verhalten.

Da, wie man vermuten kann, säurebildende Bakterien vorliegen, so wäre eine solche Probe angebracht gewesen.

Toluol gilt natürlich als Konservierungsmittel, jedoch mit der Maßgabe, daß zwecks einer technischen Sterilisierung ein bestimmtes Verhältnis zwischen den vorhandenen Organismen, der Zusammensetzung des Nährsubstrates und dem Konservierungsmittel walten muß. Je mehr Einzelindividuen vorhanden sind, je besser die Nährlösung zur Erhaltung und Fortpflanzung derselben ist, desto größere Gaben des Konservierungsmittels sind nötig, um eine technische Sterilisation zu erzielen.

Über die Menge des zugefügten Toluols fehlen leider alle Angaben.

Die bicarbonathaltigen Proben ergaben ohne Zusatz von Traubenzucker eine gewisse Menge von Kohlensäure, welche bei Gegenwart dieses Zuckers bedeutend vermehrt wurde. Die Verfasser schließen aus diesem Umstand auf eine Vergärung des Zuckers, und zwar, wie aus ihrem Bestreben hervorgeht, Alkohol nachzuweisen, auf eine alkoholische Gärung.

Machen wir die Annahme, daß säurebildende Bakterien (die Lösungen waren ja nicht steril!) gegenwärtig waren, so ist die vermehrte Erzeugung von Kohlensäure bei Zusatz von Zucker zwanglos auch ohne die Hypothese einer „künstlichen Zymase" zu erklären. Erstens: Bei Gegenwart von Zucker fanden die Bakterien bessere Lebensbedingungen (Ernährung durch ein Kohlenhydrat), produzierten mehr Säure und machten deshalb auch mehr Kohlensäure aus dem Bicarbonat frei, zweitens — selbst hiervon abgesehen — rufen auch sogenannte „indifferente" Stoffe eine erhöhte Abspaltung von Kohlensäure nicht nur aus dem Bicarbonat, sondern auch aus Natriumcarbonat hervor. Joh. Pinnow[1]) zeigte in seiner Abhandlung „Über den sauren Charakter des Mehles", daß der nach anderen Verfahren bereits festgestellte Säurecharakter des Zuckers sich auch durch Aus-

[1]) Joh. Pinnow, Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. 40, 243–246. 1920.

treiben von Kohlensäure aus Natriumcarbonat zu erkennen gibt. Wenn Joh. Pinnow bei dem stabileren Rohrzucker zu diesem Ergebnis kam, dürfte eine solche Säurewirkung bei dem leichter reaktionsfähigen Traubenzucker noch etwas energischer sein, zumal, wenn an Stelle von Monocarbonat Bicarbonat vorliegt.

Auffallend erscheint noch der Umstand, daß bei dem „enzymfreien" Gemisch der Verfasser eine Gärung ausblieb, wenn die Lösungen „flockten". Von einigen Milchsäurebakterien aber ist es bekannt, daß sie nur dann eine energischere Tätigkeit entfalten können, wenn sie in der Flüssigkeit verteilt sind wie es beispielsweise in der trüben, mit festen Partikeln durchsetzten Brennereimaische der Fall ist. Liegen diese Bakterien fest zu Boden, z. B. in einem ruhig im Laboratorium stehenden Kolben, so säuern sie nur wenig, vermutlich deshalb, weil die nächste Umgebung der Einzelindividuen schnell mit Säure angereichert wird und somit die Spaltungstätigkeit der Organismen lähmt.

Also auch dieser Einwand, daß bei Flockung der Flüssigkeit keine vermehrte Kohlensäureproduktion statthat, ließe sich zwanglos erklären.

Es bleibt noch der Nachweis des Alkohols bei stattgefundener „Gärung" zu besprechen übrig. Einwandfrei ist der Alkohol nicht festgestellt worden, aber, selbst wenn dies der Fall wäre, so ist daran zu erinnern, daß es zahlreiche Bakterien gibt, welche Alkohol im „Nebenberuf" erzeugen[1]). Die von den Verfassern in einzelnen Fällen errechnete Menge an Alkohol steht in einem derartigen Mißverhältnis zu der gegenüber den blinden Versuchen erzeugten Menge an Kohlensäure, daß vor allen Dingen von einer alkoholischen Gärung nicht die Rede sein kann.

Die Ergebnisse, welche die Verfasser in mühevoller Arbeit erzielten, ließen sich also zwanglos auch ohne Annahme eines künstlich erzeugten Gärungsenzymes erklären, wenn nicht die schon eingangs erwähnte auffällige Erscheinung vorläge, daß die „Gärung" nur dann eintritt, wenn die einzelnen Bestandteile in genau bestimmter Reihenfolge gemischt werden.

„Nur wenn das feingepulverte Gemisch von Traubenzucker, Bicarbonat und Pepton in festem Zustand in der frischbereiteten, wässerigen Lösung von Lipoid und gallensauren Alkalien auf-

[1]) Paul Lindner, Tageszeitung für Brauerei 19, 411. 1921.

gelöst wird, entsteht die dem Eintritt der Gärung zuträgliche Dispersion, nicht aber, wenn die Bestandteile einzeln in Wasser gelöst und dann zusammengegeben werden“ (S. 100).

In welcher Art die Lösung des Traubenzuckers, des Bicarbonats und des Peptons bei dem negativen Ausfall der Proben erfolgte, geben die Verfasser leider nicht an. Geschah die Lösung in heißem Wasser? Dann könnten die im Pepton vorhandenen Bakterien abgetötet und somit an einer Säureproduktion sowie an der Erzeugung winziger Alkoholmengen behindert sein. Leider geben die Verfasser nicht an, ob sie auch bei ihren negativ verlaufenden Versuchen nicht nur Bakterien, sondern auch dieselbe Art der Bakterien, die sie bei den positiv verlaufenden Proben fanden, nachweisen konnten. Die Art der Bakterien wurde überhaupt nicht festgestellt.

Wenn ich gegen die Arbeit von Baur und Herzfeld, welche ihren Kernpunkt darin findet, ein Gärungsenzym künstlich erzeugt zu haben, schwerwiegende Bedenken von seiten eines alten Gärungschemikers vorbrachte, so verkenne ich durchaus nicht das Bestreben und die mühevollen Arbeiten der Verfasser, dem Begriff der Enzyme oder Fermente durch chemische Forschung näher zu rücken.

Was wir heute als Enzyme betrachten, ist ein Sammelbegriff für sehr verschiedene Stoffe, ähnlich, wie man früher die Bitterstoffe z. B. als Gruppe betrachtete, bis es der Forschung gelang, diese Stoffe verschiedenen Klassen des chemischen Systems großenteils einzuordnen. Es ist deshalb jede Arbeit zu begrüßen, welche uns Aufklärung über die chemische Natur der Enzyme verschaffen soll, allerdings sind die Studien von Baur und Herzfeld keineswegs überzeugend.

Weiteres über den Verlauf der alkoholischen Gärung bei Gegenwart von kohlensaurem Kalk.

Von

Johannes Kerb und Kurt Zeckendorf.

[Aus der physiologisch-chemischen und bakteriologischen Abteilung des allgemeinen Krankenhauses (St. Georg) Hamburg.]

(Eingegangen am 2. Juli 1921.)

Die Brenztraubensäure-Theorie der alkoholischen Gärung wurden von Neuberg und Kerb[1]) im Jahre 1912 näher begründet. Später konnten direkte experimentelle Beweise für diese Hypothese erbracht werden. So gelang es Neuberg und Reinfurth[2]) das Vergärungsprodukt der Brenztraubensäure, den Acetaldehyd, bei der Zuckergärung mit verschiedenen Methoden und in beträcht lichenMengen (zu ca. 75%) zu fixieren. Die Genannten zeigten zugleich, daß die Brenztraubensäure unter den Bedingungen dieser „Abfangverfahren" vergoren wird, so daß sie sich nicht anhäufen kann; aus früheren Arbeiten[3]) war ferner bekannt, daß auch die brenztraubensauren Salze durch Hefe zerlegt werden. Im Gegensatz zu dieser Tatsache stand nun eine Behauptung von Fernbach und Schoen[4]). Diese Autoren haben an die zuerst von Neuberg und Wastenson (1910) gemachte Beobachtung angeknüpft, daß Brenztraubensäure gärfähig ist, und haben die kurz darauf (1911) gleichzeitig und unabhängig von Neubauer und From-

---

[1]) Neuberg und Kerb, Zeitschr. f. Gärungsphysiol. 1, 114. 1912; B. 46, 2225. 1913.

[2]) Diese Zeitschr. 89, 365. 1918.

[3]) Neuberg und Mitarbeiter, diese Zeitschr. — Vgl. auch Nagayama (Tokio), ebendaselbst.

[4]) Fernbach und Schoen, Cpt. rend. 157, 1478. 1914; 158, 1719. 1914.

herz sowie Neuberg und Hildesheimer geäußerten Ansichten[1]) über die Beziehung jener Substanz zur alkoholischen Gärung zu bestätigen gesucht; sie gaben an, Brenztraubensäure in erheblicher Ausbeute durch „Vergärung" des Zuckers lediglich in Gegenwart von kohlensaurem Kalk erzielt zu haben. Nach beendigter Vergärung von Glucose oder Invertzucker unter Zusatz von Nährsalzen und überschüssigem Calciumcarbonat sollte eine Menge von 25% des angewandten Kohlenhydrats in Form durch Alkohol fällbarer Kalksalze zugegen sein und reichlich brenztraubensaures Calcium einschließen. In der ersten Abhandlung wurde Myko- und Champagnehefe angewendet, in der zweiten Mitteilung wird behauptet, daß auch andere Hefen ein gleiches Verhalten dokumentieren sollen.

Aus diesem Grunde hatte sich der eine von uns[2]) in einer früheren Arbeit veranlaßt gesehen, die Versuche der französischen Autoren mit den üblichen deutschen Kulturhefen zu wiederholen. Denn nur ein positives Ergebnis mit typischen Hefen, nicht mit irgendwelchen Spezial-Spaltpilzen, konnte für das eigentliche Gärungsproblem von Bedeutung sein. Diese Versuche, zu denen die ober- und untergärigen Hefen Nr. XII und U des Berliner Institutes für Gärungsgewerbe benutzt worden waren, hatten ein völlig negatives Resultat gehabt. Es war nicht möglich gewesen, den qualitativen Nachweis von Brenztraubensäure durch die Nitroprussidnatriumreaktion mit Sicherheit zu führen, obgleich die Probe noch in Konzentrationen von 1 : 10 000 zu erkennen ist. Außerdem hatten die Gäransätze mit Calciumcarbonat fast genau die gleichen Alkoholausbeuten wie die Kontrollen geliefert, und das sehr kleine Defizit fand überdies seine Erklärung einmal in dem ungünstigen säurefreien Milieu, zweitens in dem etwas erhöhten Auftreten von Essigsäure, deren gesteigerte Bildung zuvor bereits von Neuberg und Hirsch[3]) für alkalische Gäransätze

[1]) Ein Unterschied in den Ansichten von Neuberg und Mitarbeitern einerseits, von Neubauer und Fromherz andererseits dürfte darin bestehen, daß erstere von vornherein die Vergärbarkeit der Brenztraubensäure für sich als „zuckerfreie Gärung" betont haben, letztere dagegen in Verfolg ihrer Untersuchungen über den Aminosäurenstoffwechsel die Umsetzung der Ketosäure bei einer gleichzeitig ablaufenden Vergärung von Kohlenhydrat in Betracht zogen.

[2]) Kerb, B. 52, 1795. 1919.

[3]) Neuberg u. Hirsch, diese Zeitschr. 96, 175. 1919.

festgestellt worden war. Essigsäure war auch die einzige organische Säure, die am Ende der Gärung als Kalksalz isoliert werden konnte.

Nun veröffentlichten Fernbach und Schoen im vorigen Jahre eine ergänzende Arbeit[1]), die nach ihrer Meinung ihre ältere Behauptung bestätigen soll, daß Brenztraubensäure bei Vergärung in Anwesenheit von $CaCO_3$ entstehe und als ein Zwischenprodukt bei diesem Vorgange anzusehen sei. Betrachtet man aber die in dieser Mitteilung enthaltene Tabelle über den verbrauchten Zucker und den erzeugten Alkohol, so sieht man sofort, daß hier nicht der vollkommen anaerob verlaufende alkoholische Gärungsprozeß, sondern ein oxydativer Vorgang vorliegt. Ihre Gäransätze mit Mykolevure ohne $CaCO_3$, bei welchen aus 4,78 g Zucker in 10 Tagen 1,08 g Alkohol auftritt, in 24 Tagen aber keine Spur Alkohol mehr vorhanden ist, können doch unmöglich als Beispiele einer regelrechten geistigen Gärung gelten! Und Champagnehefe wird nunmehr als noch weniger geeignet bezeichnet. Offensichtlich findet sich damit die schon in der ersten Arbeit von Kerb[2]) geäußerte Ansicht bestätigt, daß Fernbach und Schoens Brenztraubensäure sekundär durch einen oxydativen Abbau, etwa aus vorher entstandener Milchsäure, hervorgegangen ist. Fernbach und Schoen geben diese Möglichkeit jetzt auch selber am Schlusse ihrer letzten Veröffentlichung zu und bemerken ausdrücklich, daß überall, wo Brenztraubensäure gefunden wurde, zugleich die Anwesenheit beträchtlicher Mengen Milchsäure zu konstatieren gewesen sei. Trifft dieses zu, so verlieren die Angaben der genannten Forscher die Beziehung zur eigentlichen alkoholischen Zuckerspaltung. Denn die Milchsäure ist so wenig Zwischenprodukt wie ein Enderzeugnis der Gärung mittels frischer lebender Hefenzellen[3]). Die Begünstigung der Milchsäuregärung durch bestimmte andere Mikroorganismen in Gegenwart von kohlensaurem Kalk ist jedoch eine durchaus bekannte Tatsache. Eine Oxydation der Milchsäure zur Brenztraubensäure durch verschiedene Kleinlebewesen bei Anwesenheit von atmosphärischem

---

[1]) Cpt. rend. 170, 764. 1920.

[2]) l. c. finden sich auch die näheren Literaturangaben über Brenztraubensäurebildung aus Milchsäure usw.

[3]) Vgl. Euler-Lindner, S. 155.

Sauerstoff hätte gewiß nichts mit dem alkoholischen Gärungsprozeß zu tun und ist überdies bereits von mehreren Autoren beschrieben worden[1]). Wenn wir trotzdem nochmals auf Fernbach-Schoens Angaben eingehen, so veranlaßt uns dazu ihre Bemerkung zu der Arbeit von Kerb:

„M. Kerb a récemment révoqué en doute la production par la levure d'acide pyruvique qu'il attribue a l'action de bactéries. Ainsi que nous l'avons signalé dans nos notes antérieures, nous avons toujours opéré avec de la levure pure se multipliant dans des milieux stériles, et non avec des doses massives de levure commerciale."

Es bestand, wie wir schon früher betont haben, die nicht abzuweisende Möglichkeit und es ist nach den neuen Angaben der Autoren selbst (vgl. die komplette Wiederaufzehrung des Alkohols!) sogar fast gewiß, daß die von ihnen benutzten Mikroorganismen den eigentlichen Kulturhefen, den typischen Erregern der alkoholischen Gärung, ferner stehen und als Vermittler der obenerwähnten Oxydationserscheinungen zu betrachten sind. Erinnern wollen wir daran, daß Duclaux die Mykolevure ausdrücklich zu den oxydierenden Agentien zählt. Daß ein von der gewöhnlichen alkoholischen Zuckerspaltung ganz verschiedener Vorgang sui generis vorliegen muß, erhellt auch aus der auffälligen, von Fernbach und Schoen selbst mitgeteilten Tatsache, daß aus natürlichen (nicht rein mineralischen) Zuckersubstraten, ja sogar aus normalen, glatt vergärbaren Würzen keine Brenztraubensäure erhalten werden kann[2]). Zu denken gibt auch die ganz ungewöhnliche Abhängigkeit von der Hefenmenge und die jetzt erwähnte Fähigkeit der Erreger, ebenfalls Nichtzuckerstoffe in Brenztraubensäure umzuwandeln. Die Bemerkung über „massive Dosen" Handelshefe soll sich wohl auf die seinerzeitige Arbeitsweise von Kerb beziehen. Wie dort[3]) des näheren ausgeführt ist, wurde stets soviel Hefe zugetan, als zur vollständigen Vergärung der Zuckerlösung nötig war. Von den damals benutzten Hefeproben war, auf Trockensubstanz berechnet, 1% vom an-

[1]) Literatur siehe am oben angegebenen Ort bei Joh. Kerb.

[2]) Das steht freilich mit ihrer ersten Angabe in Widerspruch, daß die Nährlösung Pepton enthalten hat, also damals nicht rein anorganische Zusammensetzung zu haben brauchte (siehe Cpt. rend. 157, 1478. 1914).

[3]) l. c.

gewandten Zucker erforderlich. Da aber Fernbach und Schoen jetzt ausdrücklich betonen, daß ihre Ergebnisse nur mit wachsenden Kulturen erhalten werden können, so haben wir es unternommen, nun auch nach ihrer Arbeitsweise mit einer Anzahl von Reinzuchthefen derart Versuche anzustellen, daß die Erreger direkt im mineralischen Gärgut herangezüchtet wurden. Benutzt wurde hierfür eine unter- und eine obergärige Reinzuchthefe des Institutes für Gärungsgewerbe, ferner eine Weißbierhefe (obergärig) und Dortmund (untergärig), von denen in bekannter Weise garantierte Reinkulturen gezogen wurden. Da die untergärigen Hefen unter diesen pathologischen Ernährungsbedingungen (reine Minerallösung) keine Tendenz zum Wachstum und dementsprechend zur Zuckervergärung zeigten, beschränkten wir uns in der Folge auf die beiden obergärigen Sorten. Es wurden sorgfältig sterilisierte Traubenzuckerlösungen und trocken sterilisiertes Calciumcarbonat angewandt, weil sich die mit Kreide versetzten Gäransätze besonders leicht durch Kahmhefen und Schimmelpilze infizieren. Der Zuckergehalt der Kulturen wurde polarimetrisch verfolgt. Als Reagens auf Brenztraubensäure diente die Nitroprussidnatriumprobe, die aber natürlich auch noch bei anderen Oxoverbindungen positiv ausfällt.

Unsere Ergebnisse waren die folgenden:

1. Untergärige Kulturreinzuchthefen wuchsen unter Fernbach und Schoens Bedingungen überhaupt nicht (vgl. die „Vitamin- bzw. Biosfrage") oder ließen die Zuckerlösung unverändert, selbst bei Erhöhung der Impfmenge von 1 auf 10 Ösen für 100 ccm der Flüssigkeit.

2. Die Nitroprussidnatriumreaktion war in allen Fällen äußerst schwach oder ganz negativ; die stärkste beobachtete Färbung entsprach etwa 1 : 4000 Pyruvinat. Immer blieb die Menge so minimal, daß jeder Versuch, Brenztraubensäure in Substanz zu fassen, scheitern mußte.

3. Der Ausfall der Nitroprussidnatriumreaktion war völlig unregelmäßig. Sie konnte bei kalkhaltigen und kalkfreien Gäransätzen beobachtet werden, sogar bei letzteren vielleicht häufiger.

4. Das gleiche gilt von der Zeitdauer bis zum Auftreten der Reaktion. Bei einigen Ansätzen war die Probe schon nach

wenigen Tagen zu erzielen, bei anderen erst nach wochenlangem Stehen.

5. Ebensowenig konnte eine Beziehung gefunden werden zwischen vergorener Zuckermenge und Reaktionsstärke; auch hierin herrschte völlige Regellosigkeit.

6. Der positive Ausfall der Pyruvinatreaktion wurde nicht etwa durch einen Hemmungskörper verdeckt; denn sie trat auf Zugabe von kleinsten Mengen Pyruvinat deutlich ein.

7. Als Eigentümlichkeit zweier herangezogener Oberhefen erwähnen wir, daß sie manchmal in Gegenwart von kohlensaurem Calcium schneller als in dessen Abwesenheit goren.

Zusammenfassend möchten wir folgendes hervorheben: Die Brenztraubensäure, deren Auftreten als Durchgangsstufe bei der alkoholischen Gärung wohl begründet erscheint, konnte nicht in Form ihres Kalksalzes angesammelt werden, wenn typische, anaerob tätige Kulturhefen den Zuckerumsatz herbeiführten. In eiweißfreiem, rein mineralischem Medium erzeugten die darin gezüchteten Hefen bisweilen einen Körper, dessen Nitroprussidnatriumreaktion jedoch nicht mit Sicherheit auf Brenztraubensäure zu beziehen war und außerdem einen so minimalen Gehalt anzeigen würde, daß es nicht erlaubt wäre, daraus auf ein Zwischenprodukt zu schließen. Brenztraubensäure konnte nach Fernbach und Schoens Arbeitsweise nicht mit typischen Hefen und nicht auf dem typisch anaeroben Wege erhalten werden. Aus diesem Grunde erscheinen die Untersuchungen der beiden Autoren für das Problem der wahren alkoholischen Gärung leider als nicht beweiskräftig.

Gekürzter Auszug aus den Versuchsprotokollen.

Bezüglich der Anstellung der Gäransätze bemerken wir, daß genau die von den französischen Autoren gewählte Anordnung befolgt worden ist. Wegen der negativen Ergebnisse haben wir die Temperatur bei der Digestion im Thermostaten variiert.

Es bedeutet im folgenden:

HW = Weißbierhefe,
HD = Hefe Dortmund,
H XII = Hefe des Institutes für Gärungsgewerbe,
HU = Hefe des Institutes für Gärungsgewerbe.

Versuch 1: Ansatz mit 4,6 prozentiger Traubenzuckerlösung, genau wie bei Fernbach und Schoen, und mit der von ihnen angewendeten Mineral-

stoffmischung. Temp. 26°. Impfung mit 1 Öse Oberhefe H XII pro 100 ccm. Kein merkliches Wachstum und keine Zuckerabnahme, selbst innerhalb mehrerer Wochen; zu keiner Zeit Brenztraubensäure.

Versuch 2: Ansatz genau wie Nr. 1 aber mit HU. Weder Wachstum noch Verminderung des Zuckers noch Pyruvinatbildung.

Versuch 3a. Ansatz wie bei Nr. 1: Impfung jedoch mit 10 Ösen Hefe HW pro 100 ccm. Temp. 35°. Nach 7 Tagen noch 1% Zucker vorhanden; während dieser Zeit stets negative Brenztraubensäurereaktion.

Versuch 3b. Desgleichen, aber ohne $CaCO_3$. Zuckergehalt zum Schluß 1,2%. Keine Brenztraubensäure.

Versuch 4a.: Ansatz wie bei Nr. 1; Aussaat von 10 Ösen HD für je 100 ccm. Temp. 35°. Dauer 6 Tage. Zuckerrückgang auf 4,2%; keine Brenztraubensäure.

Versuch 4b: Ebenso, aber ohne Zugabe von Kreide. Der Glucosegehalt sinkt auf 4,4%. Brenztraubensäure tritt nicht auf.

Versuch 5a: Ansatz mit HW + $CaCO_3$. 10 Ösen. Temp. 22°. Schwache Reaktion mit Nitroprussidnatrium nach 10 Tagen, Zucker verschwunden.

Versuch 5b: Ansatz mit HW ohne $CaCO_3$. 10 Ösen. Temp. 22°. Nach 10 Tagen 4,0% Zucker. Keine Brenztraubensäure.

Versuch 6a: Angewendet HW + $CaCO_3$. 10 Ösen pro 100 ccm. Temp. 22°. Nach 14 Tagen 2,7% Zucker, Nitroprussidnatriumreaktion vorhanden.

Versuch 6b: Desgleichen, HW, aber ohne $CaCO_3$. 10 Ösen auf 100 ccm. Temp. 22°. 3,4% Zucker, ebenfalls positive Nitroprussidprobe nach 2 Wochen.

Versuch 7a: Entsprechender Ansatz mit HD + $CaCO_3$. Nach 18 Tagen 4,4% Zucker, ganz schwache Nitroprussidfärbung.

Versuch 7b: Ebenso ohne $CaCO_3$. Nach 18 Tagen 4,5% Glucose, ebenfalls minimale Farbprobe.

Versuch 8a: Ansatz mit HW. Aussaat von 2 Ösen. Temp. 16°. Nach 5 Tagen trat Farbenreaktion auf, die schwächer als 1 : 10 000 Brenztraubensäure war. Zuckerabnahme auf 3,7%.

Versuch 8b: Desgleichen ohne Kreide. Temp. 16°. Zuckerrückgang auf 3,8%. Nitroprussidprobe von gleicher Farbenstärke wie bei 8a.

Versuch 9a: Gleicher Ansatz mit H XII. Temp. 36°. Nach 5 Tagen noch 3,9% Zucker. Nitroprussidreaktion = 1 : 5000.

Versuch 9b: Gleicher Ansatz, kalkfrei. Nach 5 Tagen ebenfalls 3,9% Zucker. Nitroprussidreaktion = 1 : 10 000.

Versuch 10a: Ansatz mit H XII. 10 Ösen. Temp. 18°. Innerhalb 18 Tagen keine Farbreaktion.

Versuch 10b: Desgleichen ohne $CaCO_3$. Nach 10 Tagen schwach positive Farbenprobe.

Versuch 11a: Ansatz mit HW bei 18°. Nach 10 Tagen ergebnislos.

Versuch 11b: Ansatz mit HW ohne Kreide bei 18°. Nach 10 Tagen geringe Brenztraubensäurereaktion.

Versuch 12a: Ansatz mit HW. Zimmertemperaturen. 10 Ösen. Im Verlaufe eines Monats Drehungsabfall auf 0; zu keiner Zeit positive Reaktion auf Pyruvinat.

Versuch 12b: Entsprechend kreidefrei. Nach 30 Tagen Drehung = +2,4%. Nitroprussidreaktion zum Schluß angedeutet.

Versuch 13a und b: Ansatz mit H XII. 10 Ösen. Zimmertemperaturen. Nach 30 Tagen in kalkhaltiger und kalkfreier Lösung gleichmäßig schwache Nitroprussidnatriumprobe, etwa = 1 : 10000.

Über die Einwirkung von Silberverbindungen auf Hefe.

Von

Ernst Zerner und Robert Hamburger, Wien.

(Eingegangen am 8. Juli 1921.)

Gelegentlich anderer Versuche haben wir die höchst giftige Wirkung schwerlöslicher Silbersalze auf Hefe beobachtet und haben daher diese Erscheinung einer näheren Untersuchung unterzogen.

Bekanntlich hat sich in der letzten Zeit auf Grund der Annahme Saxels[1]), daß die sogenannte oligodynamische Wirkung des Silbers auf Bakterien durch eine Art Fernwirkung des Silbers zu erklären sei, eine lebhafte Diskussion über diesen Gegenstand entsponnen. Nach wie vor muß man, insbesondere auf Grund der Arbeiten von Dörr[2]), Acel[3]) und Bechhold[4]) die Oligodynamie in erster Linie auf die Wirkung gelösten Silbers zurückführen.

Die bezüglichen Versuche sind durchwegs mit Bakterien ausgeführt worden. Es schien nun interessant, auch die Hefe für diesen Zweck heranzuziehen, um so mehr, als man von diesem Mikroorganismus über beliebige und leicht durch Wägung feststellbare Quantitäten verfügen kann.

Um den Grad der Giftigkeit gelösten Silbers für unsere Hefe kennenzulernen (wir verwendeten Preßhefe der Fabrik Wolfrum in Stadlau bei Wien), stellten wir zunächst Gärungen unter Zusatz von Silbernitrat an. Und zwar verfuhren wir so, daß wir das Silbernitrat resp. die später besprochenen Zusätze zu einer Lösung von 10 g Rohzucker in 125 ccm Wasser (mit etwas Nährsalzen), dann das jeweilige Hefequantum zufügten und die Gärung

[1]) Wien. klin. Wochenschr. 1917, Nr. 23 u. 31; 1919, S. 975.
[2]) Diese Zeitschr. **106**, 110; **107**, 207; **113**, 58.
[3]) Diese Zeitschr. **112**, 23.
[4]) Kolloid-Zeitschr. 1919, S. 158.

beobachteten. Wo von dieser Arbeitsweise abgewichen wurde, wird besonders vermerkt.

Tabelle I.

Versuche mit Silbernitrat.

Hefemenge in g	$AgNO_3$ in g	Gärt aus	Hefe tot	Anmerkung
5	$1{,}8 \cdot 10^{-2}$	—	ja	Gärt nach Zusatz von 5 g Hefe aus.
5	$1{,}8 \cdot 10^{-2}$	—	ja	Gärt nach Zusatz von 5 g Hefe aus.
5	$1{,}8 \cdot 10^{-3}$	ja	—	
5	$0{,}9 \cdot 10^{-2}$	ja	—	
15	$1{,}8 \cdot 10^{-2}$	ja	—	
2,5	$0{,}9 \cdot 10^{-2}$	—	ja	Gärt nach Zusatz von 1 g Hefe aus.

Durch diese Versuche ist die tödliche Dosis gelösten Silbernitrats ziemlich scharf mit $0{,}9 - 1{,}8 \cdot 10^{-2}$ g Silbernitrat ($= 0{,}612 - 1{,}25 \cdot 10^{-2}$ g Silber) für 5 g Hefe festgestellt. Bokorny[1]) fand demgegenüber als letale Dosis 0,01—0,02 g Silbernitrat für 10 g Hefe. Diese nicht sehr erhebliche Differenz ist wohl durch individuelle Verschiedenheit der verwendeten Hefen zu erklären. Bokorny verwendete Hefe von der Spatenbrauerei München (mit einem Zusatze von 5—10% Kartoffelstärke).

Metallisches Silber scheint auf Hefe ohne Einfluß zu sein. Wir hängten wiederholt ein großes Silberblech von 112 qcm Oberfläche in Gärlösungen, die nur mit 0,1 g Hefe angestellt waren, ein, ohne daß irgendwelche Abnormalität zu beobachten gewesen wäre. Damit stimmt überein, daß, wie uns ein bekannter Praktiker der österreichischen Hefeindustrie erzählte, er besonders penible Hefezüchtungsversuche in Silbergefäßen angestellt habe.

Die Versuche mit Silbercarbonat könnten dadurch etwas beeinflußt sein, daß durch bei der Gärung entstehende Säure etwas Silbercarbonat aufgelöst werden kann. Jedoch kann das nur außerordentlich wenig sein, da man in der filtrierten Lösung mit HCl nur minimale Trübung von AgCl[2]) erhält. Auch tritt in den meisten Fällen die Abtötung äußerst rasch ein, ohne daß eine in Betracht kommende Gärung stattgefunden hätte.

[1]) Zentralbl. f. Bakteriol. usw., Abt. II 37. 1913.

[2]) Eine Trübung gleicher Intensität erhält man, wenn man etwas Ag_2CO_3 mit Wasser bei Brutschranktemperatur längere Zeit stehen läßt, wiederholt kräftig schüttelt, filtriert und mit Salzsäure versetzt.

Tabelle II.

Versuche mit Chlorsilber.

Hefemenge in g	AgCl in g	Gärt aus	Hefe tot	Anmerkung
5	5	ja	—	
0,5	5	—	ja	
0,5	5	—	ja	Auch noch 2 g in 2 Portionen nachträglich zugesetzte Hefe sterben noch ab.
0,5	5 + 1 g NaCl	ja	—	
0,5	5	—	ja	Nach Zusatz von 1,5 g Hefe und 2 g NaCl ausgegoren.
0,5	0,25	ja	—	
0,2	0,25	ja	—	

Tabelle III.

Versuche mit Silbercarbonat.

Hefemenge in g	Ag_2CO_3 in g	Gärt aus	Hefe tot	Anmerkung
0,5	0,25	—	ja	Weitere sukzessiv zugesetzte 8 g Hefe getötet.
1,5	0,25	—	ja	
2,5	0,25	—	ja	
5	0,25	—	ja	
5	0,25	—	ja	
5	0,25 + 1,5 g Na_2CO_3	ja	—	In diesen beiden Fällen wurde zuerst mit 0,5 g Soda angegoren u. dann das Silbercarbonat und der Rest der Soda zugesetzt.
5	0,25 + 1,5 g Na_2CO_3	ja	—	
10	0,25	—	ja	
10	0,25	—	ja	
30	0,25	ja	—	Gärt langsam an, Hefe sehr geschwächt, 30 g Zucker, 200 ccm Wasser.
30	0,25	—	ja	Nach kräftiger Angärung am 3. Tag alles tot, 30 g Zucker, 200 ccm Wasser.

Hefemenge in g	Ag_2CO_3 in g	Gärt aus	Hefe tot	Anmerkung
15	0,25	—	ja	15 g Zucker, 150 ccm Wasser.
30	0,5	—	ja	Am 2. Tage alles tot, 30 g Zucker, 200 ccm Wasser.
30	1,0	—	ja	Am selben Tage alles tot. 30 g Zucker, 200 ccm Wasser.
50	1,0	—	ja	Am 2. Tage alles tot. 50 g Zucker, 250 ccm Wasser.

Aus Tabelle II und III ist zunächst zu ersehen, daß das gelöste Silber von wesentlichem Einfluß ist. Das weit leichter lösliche Silbercarbonat ist erheblich giftiger als das minderlösliche Chlorsilber. Setzen wir Chlorionen zu der Lösung und vermindern wir dadurch die Löslichkeit des AgCl, so wird auch die Giftwirkung paralysiert. Analog steht es mit Sodazusatz bei Silbercarbonat.

Andererseits fällt die merkwürdige Tatsache auf, daß z. B. 5 g AgCl imstande sind, 0,5 g Hefe abzutöten, nicht aber 5 g Hefe. Solange aber Bodenkörper, ungelöstes AgCl, da ist, muß die Konzentration des AgCl in der Lösung immer die gleiche sein, wenn Durchmischung erfolgt, wofür wir durch oftmaliges Umschütteln gesorgt haben. Nehmen wir mit verschiedenen Autoren[1]) an, daß die Giftigkeit des Silbers auf der Bildung einer Silbereiweißkomplexverbindung beruhe, so verschwindet ja durch das Entstehen dieser Verbindung Silber aus der Lösung, und es müßte neues AgCl in Lösung gehen. Die gleiche merkwürdige Erscheinung zeigt sich noch augenfälliger bei den Silbercarbonatversuchen.

Es ist also die Giftwirkung schwerlöslicher Silberverbindungen nicht nur eine Frage der Löslichkeit, sondern es scheint auch zwischen der Menge des zugesetzten ungelösten Salzes und der der Vergiftung anheimfallenden Hefemenge ein Zusammenhang zu bestehen.

Wien, Juli 1921.

[1]) Bokorny, l. c. – O. Loew, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 30.

Autorenverzeichnis.



